Aus der Abteilung für Laboratoriumsdiagnostik der
Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
Direktor: Professor Dr. D. Gupta , F. R. C. Path.
der Kinderklinik der Universität Tübingen

IN VITRO UNTERSUCHUNGEN DER ANDROGEN-BIOCONVERSION IN NORMALEM, ADENOMATÖSEM UND KARZINOMATÖSEM PROSTATAGEWEBE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Wolfgang Grun
aus Neu-Ulm
1983

UNIV.
LIBRARY
CHI.

Aus der Abteilung für Laboratoriumsdiagnostik der
Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
Direktor: Professor Dr. D. Gupta , F. R. C. Path.
der Kinderklinik der Universität Tübingen

IN VITRO UNTERSUCHUNGEN DER ANDROGEN-BIOCONVERSION IN NORMALEM, ADENOMATÖSEM UND KARZINOMATÖSEM PROSTATAGEWEBE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Wolfgang Grun
aus Neu-Ulm
1983

Dekan: Professor Dr. D. Plester
1. Berichterstatter: Professor Dr. D. Gupta
2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Harzmann

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG 1

B. FRAGESTELLUNG 5

C. METHODE 6

I. Untersuchtes Gewebe 6
II. Materialien 11
III. Inkubation 14
IV. Extraktion 17
V. Dünnschichtchromatographie 18
VI. Statistik 25

D. ERGEBNISSE 26

I. Testosteron-Metabolismus über den 17-OH-Weg in Drüsen-, Adenom- und Karzinomgewebe 34
II. Testosteron-Metabolismus über den 17-OH-Weg in den verschiedenen Karzinomgeweben 36
III. Testosteron-Metabolismus über den 17-Keto-Weg 39
IV. Übrige aufgefundene Substanzen 43

E. DISKUSSION 45

I. Aktivität der 5-alpha-Reduktase 45
II. Aktivität der 3-alpha-Hydroxy-Steroiddehydrogenase 56
III. Aktivität der 17-beta-Hydroxy-Steroiddehydrogenase 59

F. ZUSAMMENFASSUNG 62

G. LITERATURVERZEICHNIS 63

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547620_0051

A. EINLEITUNG

Entwicklung, Wachstum und Funktion der Prostata wie auch deren Rückbildung und Hypertrophie im Alter sind Androgen-abhängige Prozesse (3o). Nicht Testosteron selbst, sondern dessen 5-alpha-reduziertes Abbauprodukt Dihydrotestosteron ist im wesentlichen für die androgenen Effekte (Wachstum, Differenzierung und Reifung) an der Prostata verantwortlich (5, 14, 44). Die Androgensynthese, sein Transport und seine Wirkprinzipien in der Zelle sind untersucht (17, 19, 33, 42):

Der Ort der Androgensynthese ist Hoden und Nebennierenrinde. Im Serum ist der Großteil des Testosterons an das Sexhormon-bindende Globulin (SHGB) gebunden. Nur das aktive, freie Testosteron gelangt in die Zelle, wo es durch die 5-alpha-Reduktase zu Dihydrotestosteron (DHT) metabolisiert wird. DHT besitzt eine hohe Affinität zum Androgen-bindenden Protein (Rezeptor), von dem es in viel stärkerem Maße als Testosteron gebunden wird (27). Der Androgen-Rezeptor-Komplex passiert die Kernmembran in den Zellkern, wo er sich an Chromatin anlagert. Daraufhin setzt die Bildung von m-RNA ein. Im Cytoplasma werden Testosteron und DHT weiter abgebaut. Abbildung 1 zeigt die beiden möglichen Metabolisierungswege des Testosterons, die auf jeder Conversionsstufe ineinander übergehen können (6, 9, 32). Je nach Beschaffenheit der Gruppe in Position 17 spricht man von "17-Hydroxy-" oder "17-Keto-Steroiden". Der 17-OH-Weg über DHT und Androstandiol wird in der Prostata eindeutig bevorzugt (28, 44). Die so entstandenen Metabolite werden auch wieder ins periphere Plasma abgegeben (21).

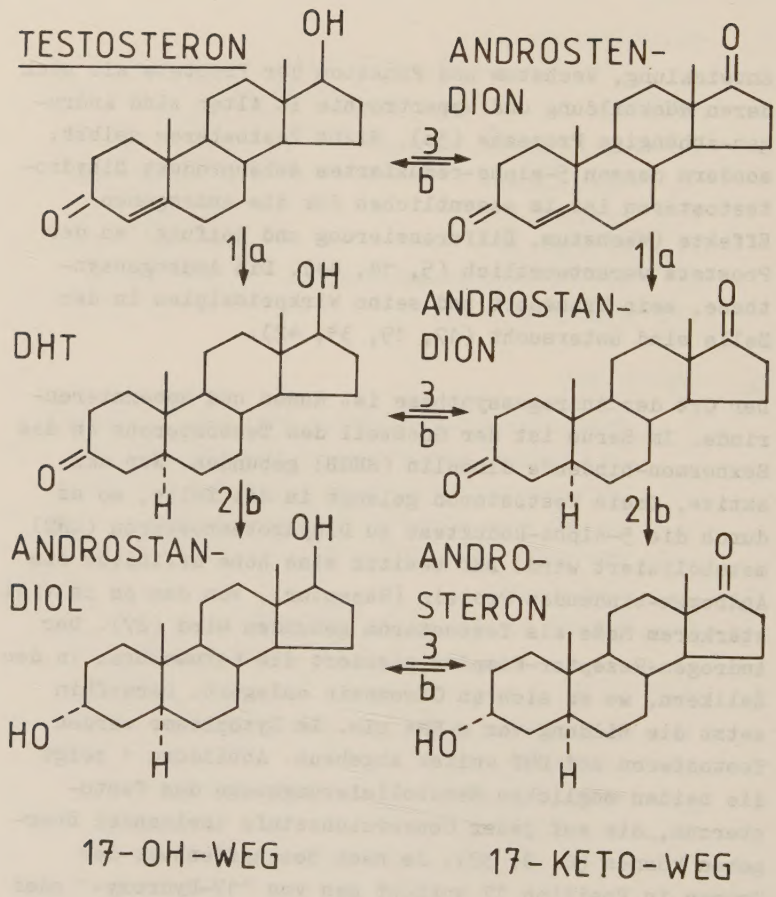

Abbildung 1: Metabolisierung des Testosteron
1 = Steroid-5-alpha-Reduktase; 2 = 3-alpha-Hydroxy-Steroiddehydrogenase; 3 = 17-beta-Hydroxy-Steroiddehydrogenase; a = H_2; b = NAD(P)H + H^+.

Cowan et al. (7) stellten fest, daß die Aktivität der 5-alpha-Reduktase, die das Testosteron zu DHT metabolisiert, hauptsächlich im Stroma und nur in geringem Maße in den Epithelien lokalisiert sei.

Ein Prostataadenom entsteht infolge einer Hormondysbalance durch Hyperplasie der periurethralen Drüsen (2o). Die BPH (Benign Prostate Hyperplasia = Prostataadenom) tritt nie bei kastrierten Männern auf. Es besteht eine Korrelation zwischen dem Alter des Patienten und der DHT-Konzentration in der Prostata, ferner ist der Gehalt an DHT im periurethralen Bereich der BPH erhöht gegenüber der äußeren Drüsenzone der Prostata (36).

Von Androstandiol wird heute angenommen, daß es an der Entstehung von BPH ursächlich beteiligt ist, da es möglich ist, beim Hund durch die Gabe von Androstandiol eine Prostatahyperplasie zu erzeugen (22).

Die Entstehung des Prostatakarzinoms liegt letztlich noch im Dunkeln. So ist z.B. bis heute nicht geklärt, ob die Abnahme der 5-alpha-Reduktase-Aktivität in Karzinomgewebe Folge oder Ursache der malignen Entartung der Zellen darstellt.

Untersuchungen von Prout (33), Bard und Lasnitzki (3), Jenkins (25) und Jacobi (23) weisen verstärkt darauf hin, daß innerhalb der Prostatakarzinome die Enzymaktivität variiert, wobei ein Zusammenhang mit deren Entdifferenzierungsgrad diskutiert wird. Eine fehlende Enzymaktivität in bereits gegengeschlechtlich behandelten Karzinomen im Relaps, d.h. in nicht mehr auf diese Therapie ansprechenden Tumoren, scheint gesichert (3, 25, 37).

UNIV. KIEL

Der Großteil der unbehandelten Karzinompatienten spricht auf die gegengeschlechtliche Therapie (Östrogene, Antiandrogene, Kastration, einzeln oder kombiniert) an (primär hormonsensibel), während sich bei etwa 2o% der Prostatakarzinome keine Hormonresponse zeigt (primär hormontaub). Verlässliche prätherapeutische Untersuchungen, die Aussagen über das Ansprechen der Tumoren auf die Hormon- oder Antihormontherapie zulassen, liegen zur Zeit nicht vor.

B. FRAGESTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit wird deshalb die Frage untersucht, ob sich normales Drüsengewebe von gesunden jungen Männern, Patienten mit Prostataadenom und Prostatakarzinom bezüglich der Enzymaktivität unterscheidet. Weiterhin, ob es Unterschiede hinsichtlich der 5-alpha-Reduktase-Aktivität gibt zwischen Adenomgewebe des Adenomträgers und Adenomgewebe des Karzinomträgers.

Letztlich, ob das Enzymmuster des Karzinomgewebes mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors sich verändert.

Die Untersuchungen könnten weitere Hinweise zur Genese des Prostatakarzinoms geben.

Darüber hinaus soll überprüft werden, ob, ausgehend vom Enzymprofil des Prostatagewebes prognostische und therapeutische Schlüsse für die effiziente Karzinomtherapie erwartet werden können.

C. METHODE

Die nachstehend beschriebene Methode wurde, in einigen Teilen abgeändert, aus der Inaugural-Dissertation von Stefan Grumbach (16) übernommen.

I. Untersuchtes Gewebe

Prostatagewebe wurde durch transurethrale Resektion (TUR) an der Urologischen Abteilung der Universitätsklinik Tübingen gewonnen.

In Vorversuchen wurde nachgewiesen, daß sich die äußeren Anteile der Gewebsspäne im Substratumsatz nicht von den inneren Partien unterscheiden, vorausgesetzt, daß bei der Probenentnahme ausschließlich mit Hochfrequenz-Schneidstrom gearbeitet wurde und Koagulationen unterblieben. Ist dem Operateur die Problematik nicht bekannt, ist damit zu rechnen, daß massiv elektrokoagulierte Proben zur Auswertung kommen, bei denen eine thermische Schädigung der Enzyme nicht ausgeschlossen werden kann.

Die so erhaltenen, etwa 1 cm langen Gewebsspäne wurden, wie in Abbildung 2 angegeben, in fünf Teile zerschnitten. Die beiden mit "B" bezeichneten Stücke wurden am Pathologischen Institut der Universität Marburg (Prof. Dr. P. Schmitz-Moormann) hinsichtlich folgender Kriterien untersucht:

- Zuordnung zu Drüsen-, Adenom- oder Karzinomgewebe
- deren prozentualer Anteil

- beim Karzinom Klassifizierung in hoch- und wenig differenzierte sowie cribriforme und anaplastische Tumoren

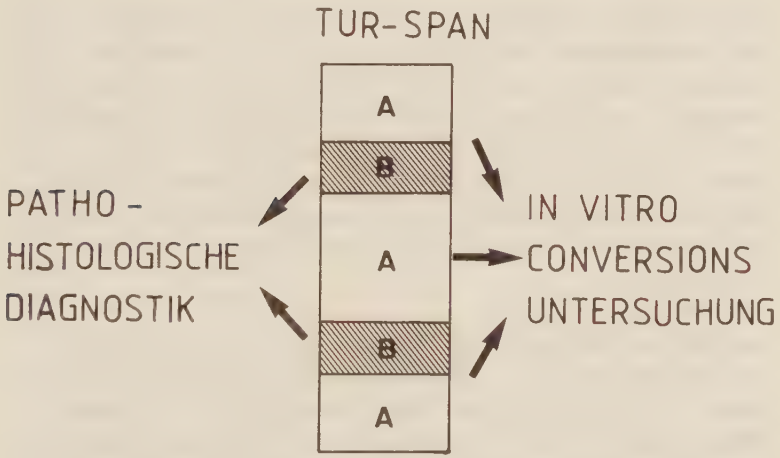

Abbildung 2: Methodik der Gewebeaufbereitung für Untersuchungen zur Prostatabioconversion.

Bei Identität beider Proben "B" und einem prozentualen Gewebeanteil von mehr als 75 % wurden die gewöhnlich zwischen 5o und 15o mg wiegenden Gewebsstücke "A" für die Bioconversionsuntersuchung herangezogen. Bis zur Aufarbeitung wurden alle Gewebe bei -7o°C gelagert.

In verschiedenen Prostataspänen eines Patienten wurden aufgrund der Gesamtmorphologie der Drüse meist mehrere histologische Diagnosen gefunden. So läßt sich in der Prostata des Adenomträgers neben Adenomgewebe auch normales Drüsengewebe, in der Vorsteherdrüse eines Karzinompatienten neben Spänen mit Karzinomgewebe auch

normales und adenomatöses Gewebe nachweisen. Die verschiedenen Karzinomproben aus der Drüse eines Patienten wiesen auch oft verschiedene Differenzierungsgrade auf (Tabelle 1).

Die Bioconversionsuntersuchungen wurden an insgesamt 144 Gewebsproben durchgeführt. 42 dieser Ergebnisse wurden verworfen, da sie der versuchsinternen Qualitätskontrolle nicht standhielten. So führte beispielsweise die Verwendung von Hank'scher Lösung eines anderen Herstellers, das vermutete Auftauen von Gewebestücken, der kurzzeitige Ausfall der Carbogenbegasung oder auch ein zu geringes Probengewicht zum Ausschluß von der Auswertung.

Von den verbliebenen 1o2 Proben waren 9 aus gesunden Vorsteherdrüsen. Die drei Patienten waren 23, 25 und 34 Jahre alt. Es wurden nur junge Männer in diese Gruppe aufgenommen, da hier sichergestellt ist, daß es noch zu keiner Hypertrophie der periurethralen Drüsen gekommen ist.

Ferner wurden 2o TUR-Späne von 6 Patienten mit der Diagnose "BPH" (benigne Prostata-Hypertrophie) untersucht. Diese Patienten hatten ein Alter von 58 bis 84, im Schnitt 7o Jahren.

Patient	Alter	Diagnose (s. Text)	Anzahl der einzelnen Späne D	A	Ca:	I	II	III	IV
CA.	34	Gesund	1	-	-				
SE.	25	Gesund	3	-	-				
SC.	23	Gesund	5	-	-				
RU.	84	Adenom	1	1	-				
KO.	66	Adenom	-	4	-				
HA.	58	Adenom	1	4	-				
DA.	7o	Adenom	-	2	-				
SA.	77	Adenom	2	2	-				
WW.	63	Adenom	2	1	-				
BR.	66	Incid.Ca	1	1	-				
SH.	72	Incid.Ca	3	-	-				
CE.	68	Incid.Ca	1	4	-				
GU.	82	Virg.Ca	2	3	2:	-	-	1	1
WI.	71	Virg.Ca	1	1	1:	-	-	-	1
ZI.	63	Virg.Ca	1	1	1:	1	-	-	-
ST.	65	Virg.Ca	-	-	2:	-	2	-	-
SI.	74	Virg.Ca	2	1	2:	-	-	-	2
GR.	78	Virg.Ca	-	-	4:	-	2	-	2
WA.	68	Virg.Ca	2	-	5:	2	-	-	3
SU.	8o	Virg.Ca	2	-	-				
EL.	57	Virg.Ca	2	2	3:	3	-	-	-
KE.	75	Virg.Ca	3	2	2:	-	-	-	2
DR.	84	H.taubes Ca	-	-	6:	2	2	-	2
KI.	61	H.taubes Ca	2	-	1:	-	-	-	1
KR.	69	H.taubes Ca	-	-	3:	-	1	-	2

Tabelle 1: Anzahl der von den einzelnen Patienten untersuchten TUR-Späne mit der histologischen Klassifikation:
D = Drüsengewebe, A = Adenomgewebe,
Ca = Karzinomgewebe mit dem Grading:
I = hoch differenziert, II = wenig differenziert,
III = cribriform, IV = solide-anaplastisch.

Von 16 Patienten mit der Diagnose "Karzinom" wurden 69 Gewebsspäne untersucht. Sie waren zwischen 57 und 84, im Schnitt 71 Jahre alt. Diese Patientengruppe unterteilt sich zunächst in drei Untergruppen:

1.) Patienten mit klinischem Prostataadenom, bei denen im Rahmen der histologischen Untersuchung nach Elektroresektion ein "Incidental-Karzinom" nachgewiesen wurde. Es handelt sich hier also um ein klinisch inaktives, ruhendes, in der Regel hochdifferenziertes, monofokales Prostatakarzinom.
2.) Patienten mit einem virginellen Karzinom, das, klinisch diagnostiziert, vor den Bioconversionsuntersuchungen noch keinerlei Therapie unterworfen worden war. Diese Patienten wurden aufgrund von Miktionsbeschwerden bzw. Karzinom-bedingter Hydronephrose beidseits palliativ elektroreseziert.
3.) Karzinom-Patienten, die schon eine gegengeschlechtliche Therapie erhalten hatten. Die Malignome dieser Patienten hatten auf die Behandlung nicht mehr angesprochen; sie sind somit sekundär "hormontaub" oder "hormonresistent".

Zur Kontrolle wurde die Bioconversion von zwei Proben einer Lymphknotenmetastase eines sekundär hormonresistenten Prostatakarzinoms untersucht; ferner zwei Proben aus einem gesunden menschlichen Muskel (m.rectus abdominis). Des weiteren wurden zwei Inkubationen als "Leerwert" vorgenommen, d.h. Medium und markiertes Testosteron wurden ohne Gewebe bzw. Enzyme inkubiert.

II. Materialien

a. Substrat

^{3}H-Testosteron, in Benzol gelöst, stammte von New England Nuclear, Boston, Massachusetts, USA; nicht markiertes Testosteron von der Firma E.Merck AG, Darmstadt. o,o4 mCi ^{3}H-Testosteron der spezifischen Aktivität 52,o Ci/mmol und o,oo2 mg nicht markiertes Testosteron wurden in 1 ml Ethanol gelöst und bis zur Verwendung kühl gelagert. In diesem Ansatz beträgt das Verhältnis

Testosteron : ^{3}H-Testosteron
also 9 : 1.

In einem Vorversuch wurde nachgewiesen, daß die Ergebnisse bei Verwendung eines Gemisches aus markiertem und unmarkiertem Testosteron denen bei Verwendung reinen ^{3}H-Testosterons entsprachen.

b. Standards

Die als Referenzsteroide benutzten Hormone stammten von den Firmen E.Merck AG, Darmstadt und Sigma Chemical Co., St.Louis, Missouri, USA. Die Standards wurden in einer Konzentration von 1 mg/ml Ethanol gelöst und ebenfalls kühl gelagert.

c. Cofaktoren, Lösungsmittel etc.

Die für die Inkubation verwendeten Cofaktoren waren Produkte der Firma Boehringer, Mannheim.

Die sterile Hank'sche Lösung, eine isotone, wässrige Lösung, die NaCl, KCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$, $MgSO_4$, Na_2SO_4, Na_2HPO_4, Glukose und kein $NaHCO_3$ enthält, kam von der Firma Serva, Heidelberg.

Die Lösungsmittel stammten von der E. Merck AG, Darmstadt und hatten den Reinheitsgrad "Zur Analyse".

Die Scintillationsflüssigkeit "Unisolve I" kam von der Firma Zinsser, Frankfurt.

d. Inkubationsmedium

Das Medium wurde jeweils unmittelbar vor jeder Inkubation angesetzt und bestand aus:

18,o ml Aqua dest.
2,o ml steriler Hank'scher Lösung
3,5 ml NADP, Di-Natriumsalz (3,257 umol/ml)
3,5 ml G-6-P, Di-Natriumsalz (36,17 umol/ml)
1,o ml Hepes-Puffer (2o umol/ml)
2,5 ml $NaHCO_3$, 3 %ig

Es wurden vergleichende Vorversuche mit einem Zusatz von G-6-P-Dehydrogenase in der von Wilson (43) beschriebenen Konzentration vorgenommen, wobei sich kein Unterschied in den Bioconversionsergebnissen nachweisen ließ.

Der pH-Wert des Inkubationsmediums betrug gewöhnlich 6,9 bzw. wurde mit Hilfe der beiden Pufferlösungen auf 6,9 eingestellt.

Während der zweistündigen Inkubation entwickelte sich der pH-Wert wie in Abbildung 3 dargestellt.

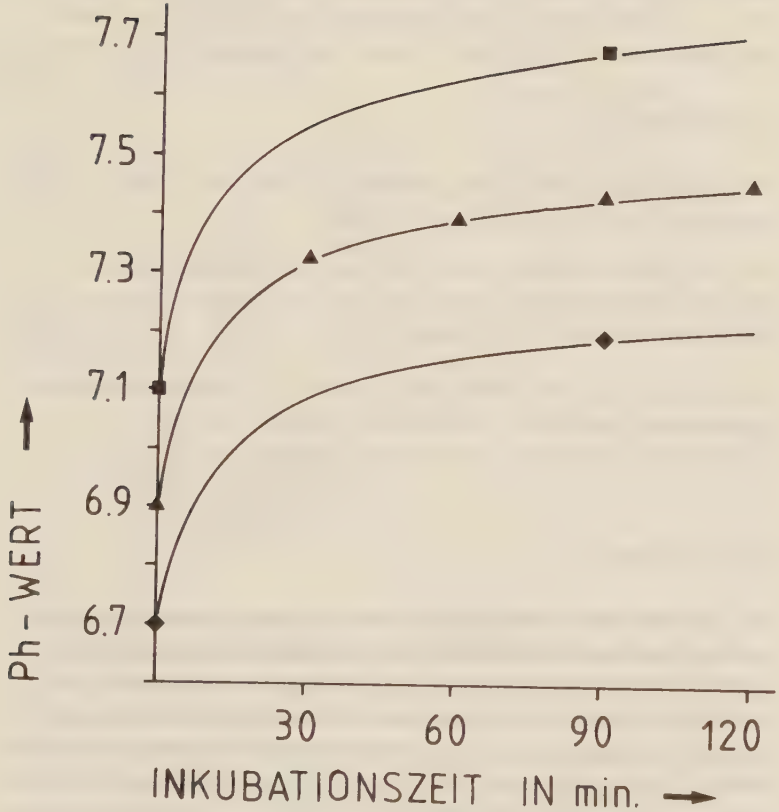

Abbildung 3: Vorversuch zur pH-Entwicklung in verschieden eingestellten Inkubationsansätzen.
Die mit "▲" markierte Kurve gibt die pH-Entwicklung im schließlich verwendeten Ansatz wieder.

In Vorversuchen wurde mit verschiedenen pH-Werten experimentiert. Es zeigte sich, daß die erhaltenen Ergebnisse sich in einem Bereich zwischen pH 6,3 und pH 7,4 (nach zweistündiger Inkubation) nicht voneinander unterschieden.

e. Messgeräte

Zur pH-Messung wurde ein pH-Meter E 3oo der Firma Metrohm, Herisau, Schweiz benutzt.

Die Messung der Radioaktivität auf den Dünnschichtplatten erfolgte mit einem Dünnschichtscanner LB 2723 der Firma Berthold, Wildbad.

Die Bestimmung der Aktivität einzelner chromatographisch getrennter Bereiche erfolgte mit einem Tri-Carbon-Scintillationszähler der Firma Packard.

III. Inkubation

Die Gewebsproben wurden zunächst in gefrorenem Zustand gewogen und nach Abkühlen in flüssigem Stickstoff auf -17o°C in der Teflon-Kapsel eines Mikro-Dismembrators der Firma Braun, Melsungen bei maximaler Amplitude (15 mm) 3o sek. lang zu subzellulären Partikeln pulverisiert. Dieser Vorgang wurde noch einmal wiederholt. Anschließend wurde 1oo mg Gewebe mit 5o ul Substratansatz und 3 ml Medium in ein Inkubationsgefäß gegeben (Abbildung 4). War die verwendete Gewebsprobe schwerer oder leichter, wurden entsprechend mehr oder weniger Substrat und Medium hinzugefügt.

Die Konzentration an Testosteron (markiert und unmarkiert) im Gesamtansatz betrug $1{,}22 \times 10^{-7}$ mol/l.

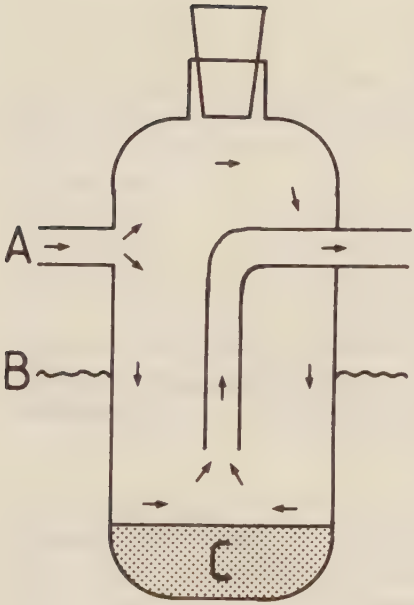

Abbildung 4: Inkubationsgefäß (Skizze; etwa normale Größe)

A: Carbogenzufuhr
B: Wasserspiegel im Dubnoff-Shaker
C: Inkubat

Unter ständigem Schütteln wurden die Proben im Wasserbad eines Dubnoff-Shakers bei 37°C inkubiert. Um ein Eintrocknen des Inkubates zu vermeiden, wurde die Carbogenzufuhr auf etwa 1o ml/min. begrenzt. Nach genau zweistündiger Inkubation wurden die Proben zur weiteren Aufbereitung entnommen.

Die graphisch ermittelte K_m (Michaelis-Konstante) lag im Bereich von $1o^{-6}$ bis $1o^{-7}$ und entsprach somit ungefähr dem von Wilson u. Mitarb. ermittelten Wert (43).

In einem Vorversuch mit Prostata-Adenomgewebe wurden die Bioconversionsergebnisse nach ein, zwei und drei Stunden miteinander verglichen (Abbildung 5).

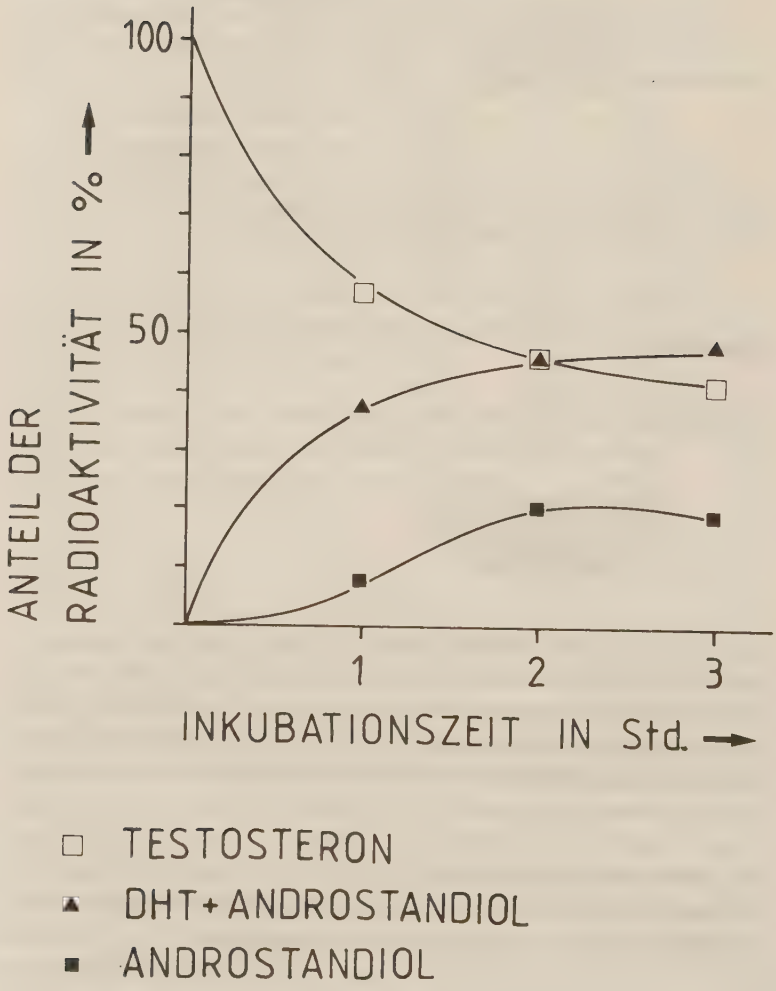

Abbildung 5: Vergleich der Bioconversion von Testosteron bei verschiedenen Inkubationszeiten.

IV. Extraktion

Die Gewebsproben wurden nach Inkubation sofort in Schliffglasröhrchen überführt, die schon je 1o ml Essigsäureäthylester zur Hemmung einer weiteren Substratumsetzung enthielten. Nachdem die Inkubationsgefäße noch zweimal mit 1 ml Wasser nachgespült worden waren, wurden die Schliffglasröhrchen kräftig geschüttelt. Unter Zusatz von je 2oo ul der sechs Referenzsteroide wurden die Proben 1o Minuten bei 175 U/min geschüttelt, zentrifugiert und der Überstand in neue Gefäße überführt. Der Rückstand wurde mit 5 ml warmem Essigsäureäthylester nachgewaschen, erneut 1o Minuten geschüttelt und zentrifugiert.

Nach Vereinigung beider Überstände wurde der Essigsäureäthylester verdampft. Zur Entfernung vorhandener Lipide wurde der eingedampfte Rückstand in 5 ml 7o %igem Methanol gelöst, 1o ml n-Hexan hinzugefügt, 1o Minuten bei 2oo U/min geschüttelt und kurz zentrifugiert. Mit einer Punktionsnadel wurde die obere Hexanphase abgesaugt. Die verbliebenen Fette wurden zum Ausfrieren über Nacht in die Tiefkühltruhe gestellt. Am nächsten Morgen erfolgte in der Tiefkühltruhe die Filtration der ausgefrorenen Fette. In die geleerten Glasröhrchen wurden nochmals 5 ml 7o %iges Methanol gegeben, geschüttelt, in die Tiefkühltruhe gestellt und nach Filtrierung der ersten 5 ml (nach Ablauf von 4 bis 6 Stunden) in die Filter nachgeschüttet. Die Filtration dauerte insgesamt 6 bis 12 Stunden. Nach Eindampfen des Filtrats wurden die Proben mit 1o ml Chloroform versetzt.

Zum Entfernen der Östrogene wurde anschließend mit je o,5 ml 1n NaOH und zweimal mit je o,5 ml Aqua dest. ge-

schüttelt, zentrifugiert und die obere Phase mit einer Punktionsnadel abgesaugt. Das Chloroform der Proben wurde eingedampft, und erst kurz vor der chromatographischen Auftrennung wurden je 1oo ul Essigsäureäthylester hinzugefügt.

V. Dünnschichtchromatographie

Durch Substratconversion durch die Enzyme des Prostatagewebes wurde eine Anzahl radioaktiv markierter Metaboliten gebildet. Aus jedem Inkubationsansatz wurden mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie sechs Steroide und eine unbekannte Substanz identifiziert und ihr prozentualer Anteil an der Gesamtmenge vorgefundener Radioaktivität bestimmt. In einer ersten Auftrennung auf mit Kieselgel G (Typ 6o) beschichteten Glasplatten wurden eines der sechs Steroide (Androstandion) und die unbekannte Substanz eindeutig abgetrennt. Die übrigen Hormone wurden durch einen zweiten Trennungslauf auf Dünnschichtplatten nach Acetylierung getrennt.

a. Erster Trennungsgang

Die erste chromatographische Auftrennung der extrahierten Steroide erfolgte auf mit Kieselgel beschichteten Glasplatten (2o x 2o cm). Der Glastank, in dem die Trennung erfolgte, wurde vor jedem Lauf frisch präpariert. Um eine möglichst gleichmäßige Äquilibrierung im Tankinneren zu erreichen, war der Tank allseitig mit 3M Whatman Chromatographiepapier ausgekleidet. Als Laufmittel diente eine Mischung aus Chloroform : Aceton : Essigsäureäthylester im Verhältnis 9 : 1 : 2.

Plattenherstellung: 75 g Kieselgel G Typ 6o nach Stahl wurden mit 15o ml Aqua dest. vermischt, gut geschüttelt und auf einer Shandonschiene mit dem dazugehörigen Schlitten in einer Schichtdicke von o,5 mm auf die Glasplatten aufgetragen. Die Platten wurden an der Luft getrocknet, für einige Stunden im Trockenschrank bei 8o°C aktiviert und bis zum Trennungslauf in einem staubfreien Plattenschrank mit Blaugel aufbewahrt. Die Platten wurden jeweils einen Tag vor dem Lauf gegossen.

Auftragen der Standards und der Proben: Auf die beschichteten Glasplatten wurden Bahnen von 2,o cm Breite bei Zwischenräumen von o,5 cm geritzt. Auf jeder Platte fanden so sieben Bahnen Platz. Auf den mittleren Bahnen wurden die Gewebsproben (meist drei pro Platte), auf einer der äußeren ein Gemisch aus je 5o ul der Referenzsteroid-Lösungen aufgetragen, nachdem in einem Vorversuch deren Reihenfolge nach erfolgtem Trennungslauf geklärt worden war (Abbildung 6a). Die Standards und die in je 1oo ul Essigsäureäthylester gelösten Proben wurden mit einer Pasteurpipette entlang der Startlinie (2,4 cm vom Unterrand der Platte entfernt) mit Hilfe einer Plastikschiene der Firma Shandon aufgetragen und gleichzeitig geföhnt. Bei den Proben wurde dieser Vorgang noch zweimal mit je 1oo ul Essigsäureäthylester wiederholt.

Trennungslauf: Nach dem Auftragen der Proben und Standards erfolgte der Trennungslauf im äquilibrierten Glastank. Die Raumtemperatur betrug 18,5°C und die Laufzeit etwa 5o Minuten. Die Lösungsmittelfront lief jeweils bis zur Oberkante der Platte, so daß ihre Laufstrecke stets 17,6 cm betrug.

Färbung der Standards, Rf-Werte: Nach erfolgtem Trennungslauf und Trocknung wurden die Bahnen mit den Proben abgedeckt. Die Bahnen mit den Referenzsteroiden wurden zur Sichtbarmachung der Standards mit einer 1o %igen Phosphormolybdänsäure-Isopropanol-Lösung besprüht und für etwa zwei Stunden im Trockenschrank auf 4o°C erwärmt. (Eine höhere Temperatur wurde mit Rücksicht auf die Proben auf derselben Platte vermieden). Die Standards wurden als blaue Streifen sichtbar. Mittelpunkt und Streuung jedes der sechs Standardhormone wurden auf der Platte markiert und die Laufstrecke abgemessen. Diese Werte wurden zur Identifizierung der radioaktiv markierten und somit als Peaks in der Scannerkurve erscheinenden Hormone der Proben jeweils derselben Platte herangezogen. Aus der Laufstrecke des Fließmittels und denen der Standards konnten die Rf-Werte für die sechs gesuchten Steroide ermittelt werden. Tabelle 2 zeigt die Rf-Werte der sechs Standardhormone sowie deren Abweichungen bei den einzelnen chromatographischen Trennungen.

Scannen der Proben: Um die Lage der radioaktiv markierten Hormone auf der Dünnschichtplatte zu bestimmen, wurden diese gescannt. Die Aufzeichnung der Radioaktivität ergab für jede Bahn eine typische Kurve mit sechs mehr oder weniger erkennbaren Peaks. Nach Übertragung der Laufstrecken der Standards derselben Platte auf die Scannerkurve war eine Zuordnung der einzelnen Hormone zu den Peaks möglich (Abbildung 6a).

Steroid	Rf	s	VK
Androstandiol	o.255	o.o32	12.64o
Testosteron	o.328	o.o32	9.63o
DHT / Androsteron	o.415	o.o28	6.84o
Androstendion	o.52o	o.o28	5.443
Androstandion	o.621	o.o27	4.387

Tabelle 2: Arithmetisches Mittel der Rf-Werte (n=32) der Referenzsteroide nach aufsteigender Dünnschichtchromatographie in einem Laufmedium von Chloroform : Aceton : Essigsäureäthylester im Verhältnis 9 : 1 : 2.

$Rf = \frac{\text{Laufstrecke der Substanz}}{\text{Front des Laufmittels}}$

s = Standardabweichung

VK = Variationskoeffizient

Acetat d. Steroids	Rf	s	VK
Androstendion	o.21o	o.o31	14.726
Testosteron	o.356	o.o48	13.566
DHT	o.492	o.o54	11.o6o
Androsteron	o.538	o.o55	1o.295
Androstandiol	o.622	o.o53	8.546

Tabelle 3: Arithmetisches Mittel der Rf-Werte (n=31) der Referenzsteroide nach Acetylierung und aufsteigender Dünnschichtchromatographie in einem Laufmedium von Benzol : Essigsäureäthylester im Verhältnis 4 : 1.

$Rf = \frac{\text{Laufstrecke der Substanz}}{\text{Front des Laufmittels}}$

s = Standardabweichung

VK = Variationskoeffizient

Peak o: Am Start blieb manchmal etwas radioaktive Substanz liegen, die einen kleinen Peak verursachen kann.

Peak 1: Er war nicht immer zu erkennen und konnte keinem Standard zugeordnet werden. Es handelt sich um eine Substanz, die polarer als die übrigen, definierten Hormone ist.

Peak 2: Er war meist klar als solcher erkennbar, enthielt Androstandiol und war oft nicht scharf von Peak 3 abzugrenzen.

Peak 3: Er war in jeder Kurve klar zu erkennen (in mancher als einziger), enthielt das Substrat Testosteron und war meist klar von Peak 4 abzugrenzen.

Peak 4: Er war meist gut erkennbar und wenn, dann stets höher als Peak 2 und meist niedriger als Peak 3. Er enthielt DHT und Androsteron und war nicht immer gut von Peak 5 abzugrenzen.

Peak 5: Er war meist sehr niedrig, aber erkennbar, enthielt Androstendion und war stets klar von Peak 6 abzugrenzen.

Peak 6: Er war oft nicht erkennbar und enthielt Androstandion.

Nachdem in Peak 6 nur ein Steroid nachgewiesen wurde, und dieser, wie auch Peak 1 mit der unbekannten, polaren Substanz, klar abgrenzbar waren, mußten diese Bereiche nicht weiter aufgetrennt werden. Die Peaks 2, 3, 4 und 5 wurden en bloc abgekratzt, ausgezählt und nach Acetylierung nochmals dünnschichtchromatographisch aufgetrennt.

Messung der Radioaktivität: Das Kieselgel der einzelnen Bereiche wurde analog Abbildung 6a von der Glasplatte unter dem Abzug (bei Verwendung eines Mundschutzes) abgeschabt. Die darin enthaltenen Steroide wurden in Glasfiltern mit 1 x 3 und 1 x 2 ml Essigsäureäthylester eluiert (Bereich 5 und 1 wurden gemeinsam in einem Filter eluiert.). Die Eluate wurden bei 4o°C eingedampft und in 1 ml Ethanol gelöst. Davon wurde ein Aliquot von je 1oo ul in ein Scintillationsröhrchen mit 1o ml Scintillationsflüssigkeit abpipettiert. Im Scintillationszähler wurden die Counts ausgezählt und schließlich als prozentualer Anteil an der gesamten vorgefundenen Radioaktivität pro Ansatz angegeben. Bereich 3 betrug gewöhnlich mehr als 9o % un wurde später weiter aufgeschlüsselt.

Recovery: Um die Recovery zu erhalten, wurden die ermittelten Counts mit 1o multipliziert und mit einer entsprechenden Menge ausgezählten Substratgemisches verglichen. Sie lag gewöhnlich zwischen 6o und 8o %.

b. Zweiter Trennungsgang

Zur Auftrennung des Bereiches 3 der ersten Dünnschichtchromatographie wurden die verbliebenen 9oo ul Ethanol des eluierten Bereiches eingedampft, ebenso ein Gemisch aus je 2o ul der fünf entsprechenden Standards. Proben und Standards wurden dann mit je 1oo ul Pyridin und 1oo ul Essigsäureanhydrid versehen und für 12 bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurden Proben und Standards erneut eingedampft.

Trennungslauf: Die Trennung der Acetate erfolgte auf mit Kieselgel G beschichteten Glasplatten (2o x 2o cm) in der oben beschriebenen Weise. Jede der acetylierten Proben wurde dreimal hintereinander in je 1oo ul Essigsäureäthylester : Methanol (2 : 1) gelöst und unter Föhnen aufgetragen. Als Laufmittel für die Dünnschichtchromatographie in einem kleinen Glastank diente ein System aus Benzol : Essigsäureäthylester im Verhältnis 4 : 1. Der Tank wurde jeweils einen Tag vor dem geplanten Lauf vorbereitet. Die Laufdauer betrug durchschnittlich 45 Minuten bei einer konstanten Raumtemperatur von 18,5°C.

Sichtbarmachen der Standards, ihre Identifizierung und die Berechnung der Rf-Werte erfolgte wie zuvor beschrieben. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die Rf-Werte der zweiten Dünnschichtchromatographie nach Acetylierung.

Identifizierung der Peaks, Einteilung der Bereiche, Eluieren und Auszählen der radioaktiven Substanzen erfolgte ebenfalls wie beschrieben. Abbildung 6b zeigt eine typische Scannerkurve des Bereiches 3 nach Acetylierung sowie die Laufstrecken der entsprechenden Standards.

Die Chromatographie der Acetate ergab klare Trennungen zwischen allen Steroiden. Einzig die Trennung zwischen Androsteron und DHT erwies sich nicht immer als ganz scharf. Dies fiel aber nicht ins Gewicht, da Androsteron bei den verwendeten Prostatageweben nie einen Peak bildete und somit nur in minimaler Menge vorhanden sein konnte. Eine eventuelle nicht ganz scharfe Trennung konnte das (meist relativ hohe) DHT-Ergebnis also nicht beeinflussen.

VI. Statistik

Um die bei den verschiedenen Gewebearten gefundenen Bioconversionsergebnisse miteinander zu vergleichen, wurde der Mann-Whitney-Test angewandt. Dieser auf dem sogenannten Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben basierende Rangtest ist empfindlich gegenüber Medianunterschieden, weniger empfindlich bei unterschiedlichen Schiefen und unempfindlich für Varianzunterschiede. Der Test prüft die Alternativhypothese: Die Wahrscheinlichkeit, daß eine Beobachtung der ersten Grundgesamtheit größer ist als eine beliebig gezogene Beobachtung der zweiten Grundgesamtheit, ist ungleich 1/2. (34)

D. ERGEBNISSE

Die einzelnen Bioconversionsergebnisse ließen sich schon aus den Scannerkurven grob abschätzen. Die folgenden Abbildungen (6a, 6b, 7 und 8) zeigen Beispiele für typische Scannerkurven. Es handelt sich um Kurven von Bioconversionsversuchen, die im Ergebnis nahe bei den durchschnittlich ermittelten Werten der jeweiligen Gewebeart lagen.

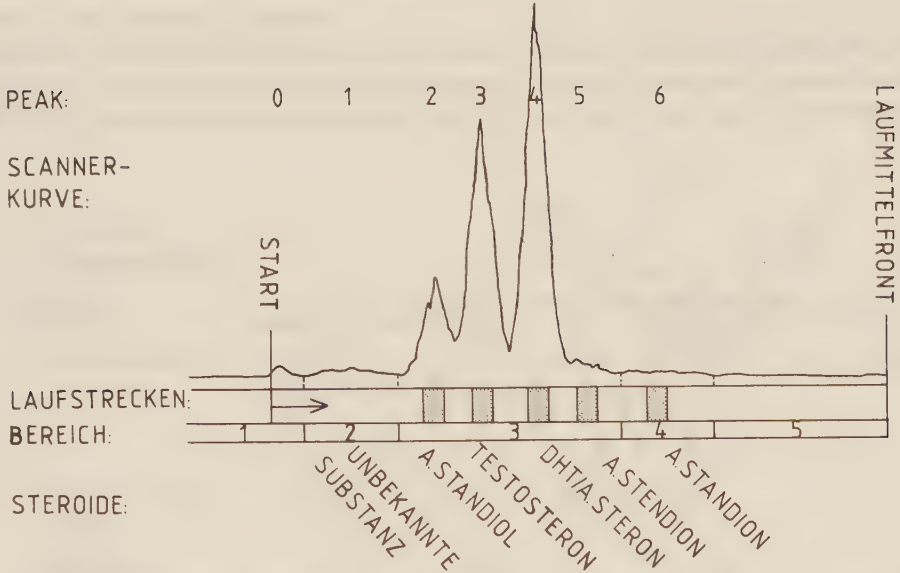

Abbildung 6a: Dünnschichtchromatographische Auftrennung der Testosteronmetabolite nach Bioconversion durch Adenomgewebe aus einer BPH-Prostata. Die Scannerkurve zeigt die Verteilung der Radioaktivität auf einer Bahn der Dünnschichtplatte. Mit Hilfe der Laufstrecken unmarkierter Hormone wurden die durch die Peaks repräsentierten Steroide identifiziert. Die Steroide des Bereiches 3 wurden acetyliert und nochmals chromatographisch aufgetrennt.

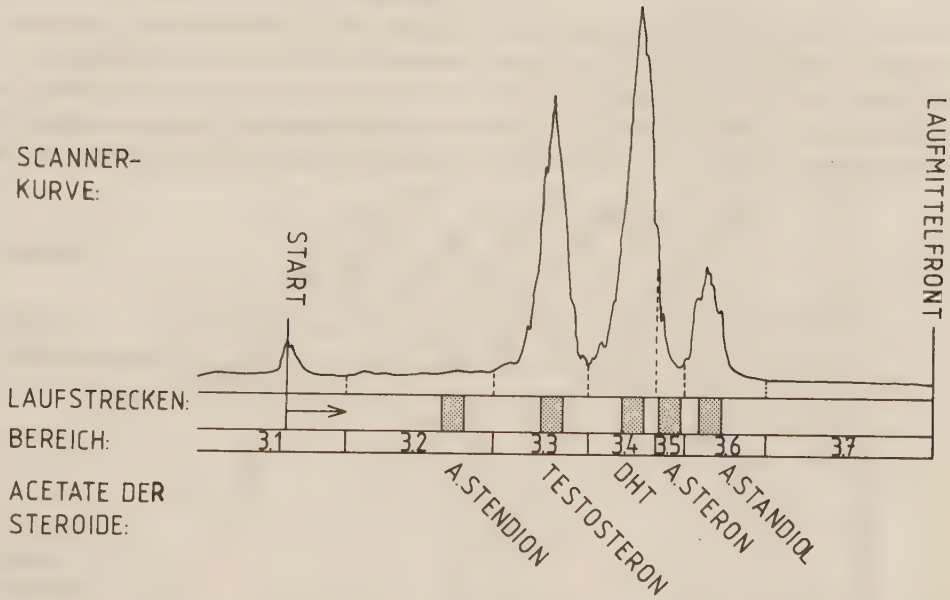

Abbildung 6b: Dünnschichtchromatographische Auftrennung der Testosteronmetabolite des Bereiches 3 nach Acetylierung. Es handelt sich um dieselben, durch Bioconversion durch Adenomgewebe aus einer BPH-Prostata entstandenen Steroide, die Abbildung 6a in Bereich 3 zeigt.

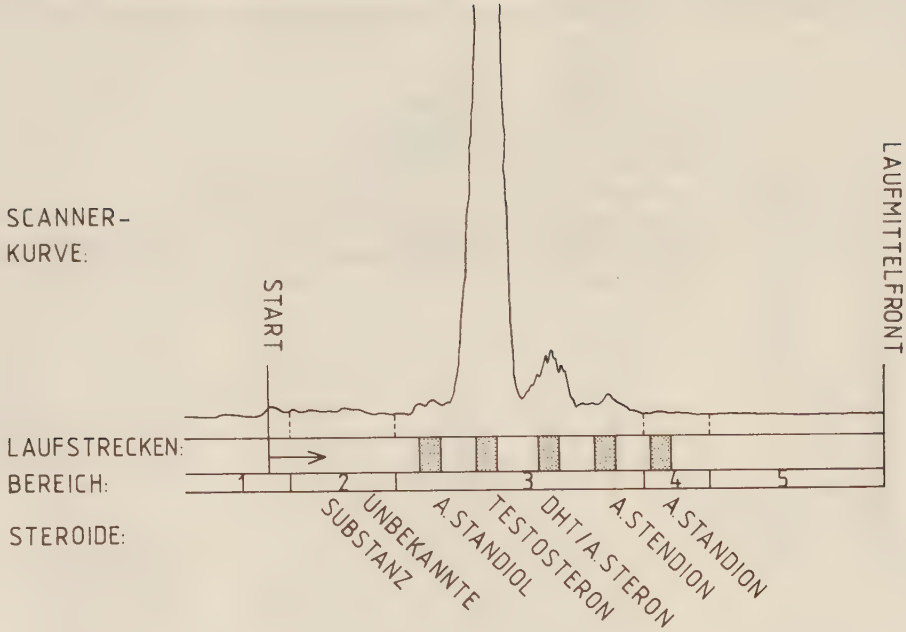

Abbildung 7: Dünnschichtchromatographische Auftrennung der Testosteronmetabolite nach Bioconversion durch gesundes Drüsengewebe eines jungen Mannes.

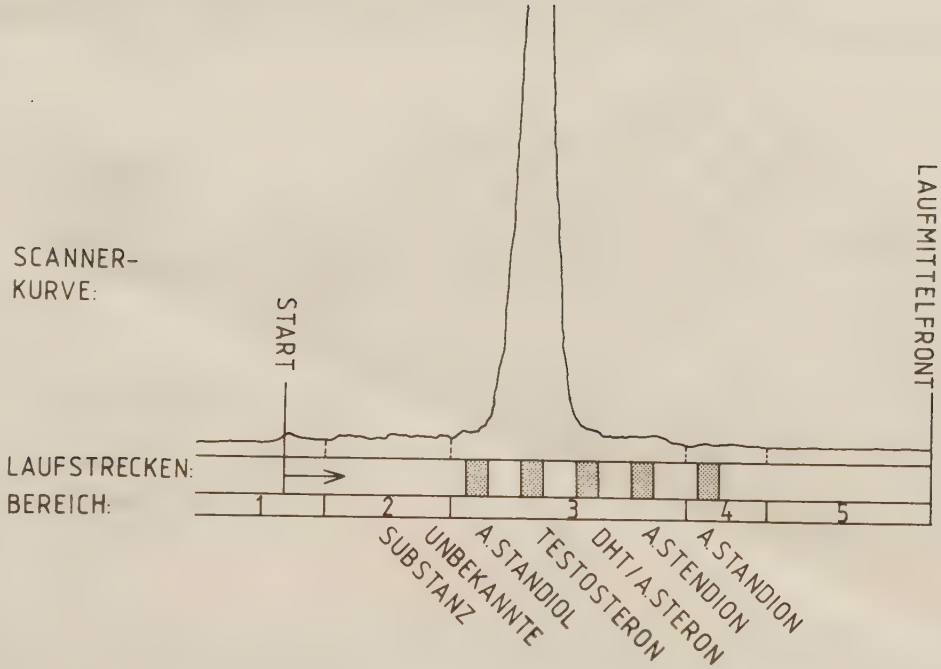

Abbildung 8: Dünnschichtchromatographische Auftrennung der Testosteronmetabolite nach Bioconversion durch Karzinomgewebe aus "enzymarmer" Karzinom-Prostata.

Die gefundenen Enzymaktivitäten wurden nach folgenden Gesichtspunkten in Gruppen geordnet: Zunächst wurden alle Gewebe nach der Herkunft (Junger Mann, Adenomträger, Karzinomträger) eingeteilt (Abbildung 9 und 1o). Von jungen Männern wurde nur Drüsengewebe, von Adenomträgern Adenom- und Drüsengewebe und von Karzinomträgern entsprechend Karzinom-, Adenom- und Drüsengewebe untersucht.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Bei den angegebenen Werten handelt es sich um Prozentangaben, die den Anteil des Steroids an der Gesamtheit der vorgefundenen Hormone widerspiegeln.

Berechnung: Die Bioconversionsraten der einzelnen Steroide wurden aus der im Scintillationszähler gemessenen Aktivität der jeweiligen Bereiche auf der Dünnschichtplatte (s.o.) berechnet. Jeder Bereich wurde 2 x 1o Minuten im ^{3}H-Kanal bei einem Gain von 5o % bei gleichzeitiger Background-Subtraktion gezählt. Für jeden Bereich wurde daraus der Durchschnittswert in Counts / 1o Minuten errechnet.

Als 1oo % diente die Summe der Counts / 1o Minuten aller 5 Bereiche der ersten Dünnschichtchromatographie. Die Counts der einzelnen Bereiche wurden dann entsprechend in Prozent ausgedrückt. Die weitere Auftrennung des Bereiches 3 wurde dann auf den Prozentwert der ersten Chromatographie umgerechnet.

Klin. Diagnose	Hist. Diagn.	n	DHT	Diol	T	As	Dion	Δ	U
Gesund	D	9	1o.5o	1.99	82.25	o.67	o.32	1.53	2.29
Adenom	D	6	27.o2	5.78	6o.59	2.33	o.51	1.66	2.92
	A	14	22.64	5.25	65.68	1.69	o.41	1.66	2.84
Karzinom, alle	D	22	7.91	1.58	83.44	1.23	o.3o	1.86	3.o5
	A	15	14.31	2.2o	75.72	1.47	o.28	1.4o	3.84
	Ca	32	2.5o	1.49	89.33	o.5o	o.26	2.19	3.24
Incid.Ca	D	5	12.85	1.63	75.75	3.56	o.47	1.65	3.32
	A	5	1o.41	1.45	82.32	1.29	o.2o	1.35	2.96
Virg.Ca enzym-reich	D	8	11.23	1.94	79.7o	o.85	o.29	1.44	3.8o
	A	6	26.77	3.72	57.43	2.34	o.39	1.4o	4.96
	Ca	17	4.1o	1.9o	87.64	o.64	o.26	1.93	3.14
Virg.Ca enzym-arm	D	7	2.4o	1.21	9o.56	o.3o	o.23	2.37	2.34
	A	4	o.73	o.99	91.83	o.38	o.2o	1.46	3.72
	Ca	5	o.72	1.15	92.oo	o.53	o.25	1.6o	3.14
Hormon-taubes Ca	D	2	1.o3	1.33	92.69	o.2o	o.27	2.27	1.82
	Ca	1o	o.66	o.96	9o.87	o.24	o.25	2.94	3.47
Metastase		2	o.76	1.33	92.29	o.o7	o.12	3.18	2.1o
Muskel[+]		2	o.43	1.o9	92.75	o.24	o.1o	2.95	2.13
Leerwert[++]		2	o.61	1.o2	94.9o	o.25	o.o8	1.49	1.15

Tabelle 4: Ergebnisse in Prozent Bioconversion von ^{3}H-Testosteron nach Inkubation von verschiedenen Geweben. D = Drüse; A = Adenom; Ca = Karzinom; DHT = Dihydrotestosteron; Diol = Androstandiol; T = Testosteron; As = Androsteron; Dion = Androstandion; Δ = Androstendion; U = Unbekannte Substanz; Klin. = Klinisch; Hist. = Histologisch; Incid. = Incidental; Virg. = Virginell;
[+]musculus rectus abdominis;
[++]Inkubation von Medium und Substrat ohne Gewebe.

Klin. Diagnose	Hist. Diagnose	Signifikanzniveau	Klin. Diagnose	Hist. Diagnose
Gesund	Drüse	- o.oo5 -	Adenom	Drüse
Gesund	Drüse	- NS -	Ca/alle	Drüse
Gesund	Drüse	- o.oo1 -	Ca/alle	Ca
Gesund	Drüse	- NS -	Ca/Incid.	Drüse
Gesund	Drüse	- NS -	Ca/reich	Drüse
Gesund	Drüse	- o.oo1 -	Ca/reich	Ca
Gesund	Drüse	- o.oo1 -	Ca/arm	Drüse
Gesund	Drüse	- (o.oo1) -	Ca/taub	Drüse
Gesund	Drüse	- o.oo1 -	Ca/taub	Ca
Adenom	Drüse	- NS -	Adenom	Adenom
Adenom	Drüse	- o.oo1 -	Ca/alle	Drüse
Adenom	Drüse	- o.o5 -	Ca/alle	Adenom
Adenom	Drüse	- o.oo1 -	Ca/alle	Ca
Adenom	Drüse	- o.oo5 -	Ca/Incid.	Drüse
Adenom	Drüse	- o.oo5 -	Ca/reich	Drüse
Adenom	Drüse	- o.oo5 -	Ca/arm	Drüse
Adenom	Drüse	- (o.oo1) -	Ca/taub	Drüse
Adenom	Adenom	- o.oo1 -	Ca/alle	Ca
Adenom	Adenom	- NS -	Ca/alle	Adenom
Adenom	Adenom	- o.oo5 -	Ca/Incid.	Adenom
Adenom	Adenom	- NS -	Ca/reich	Adenom
Adenom	Adenom	- o.oo1 -	Ca/arm	Adenom
Ca/alle	Drüse	- NS -	Ca/alle	Adenom
Ca/reich	Drüse	- o.oo5 -	Ca/reich	Adenom
Ca/reich	Ca	- o.oo1 -	Ca/taub	Ca
Ca/reich	Ca	- o.oo1 -	Ca/arm	Ca
Ca/arm	Drüse	- o.o5 -	Ca/arm	Adenom
Ca/arm	Ca	- NS -	Ca/taub	Ca

Tabelle 5: Vergleich der Bioconversionsergebnisse (DHT) mit Hilfe des Mann-Whitney-Testes. (Zu Tabelle 4)
NS: kein signifikanter Unterschied.

I. Testosteron-Metabolismus über den 17-OH-Weg in Drüsen-, Adenom- und Karzinomgewebe (Tabelle 4 und 5, Abbildung 9 und 1o)

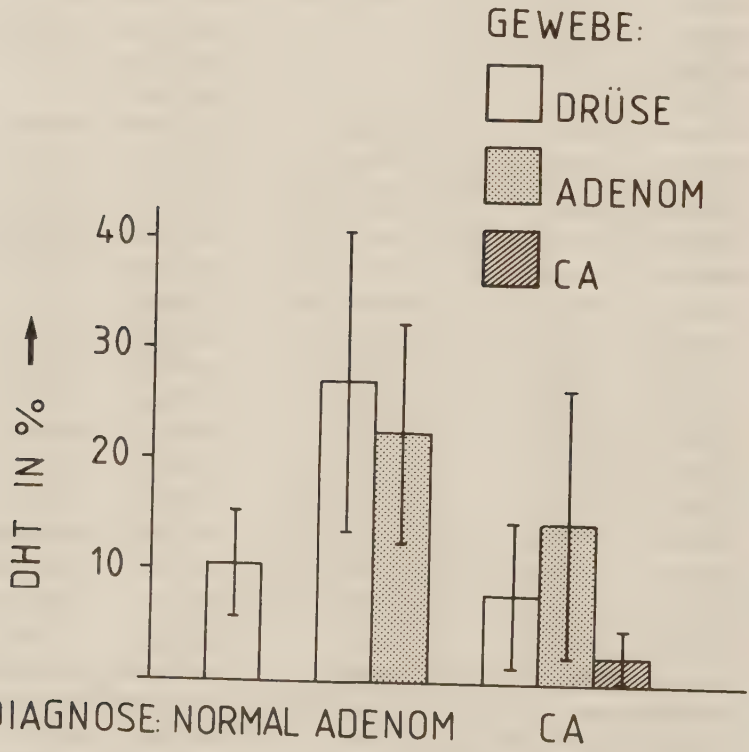

Abbildung 9: Testosteron → Dihydrotestosteron Bioconversion in Prozent

Das Drüsengewebe des Adenomträgers zeigte mit 27,1 % eine signifikant höhere Testosteron-DHT-Conversion als das des Normalpatienten mit 1o,5 % und des Karzinompatienten mit

7,9 %. Die beiden letzten Gruppen ließen sich nicht signifikant unterscheiden.

Die DHT-Bildung im Adenom des Adenomträgers und Karzinomträgers zeigte keinen signifikanten Unterschied.

Beim Adenomträger war die DHT-Menge des Drüsengewebes im Mittel gegenüber dem Adenomgewebe erhöht, der Unterschied war jedoch nicht signifikant.

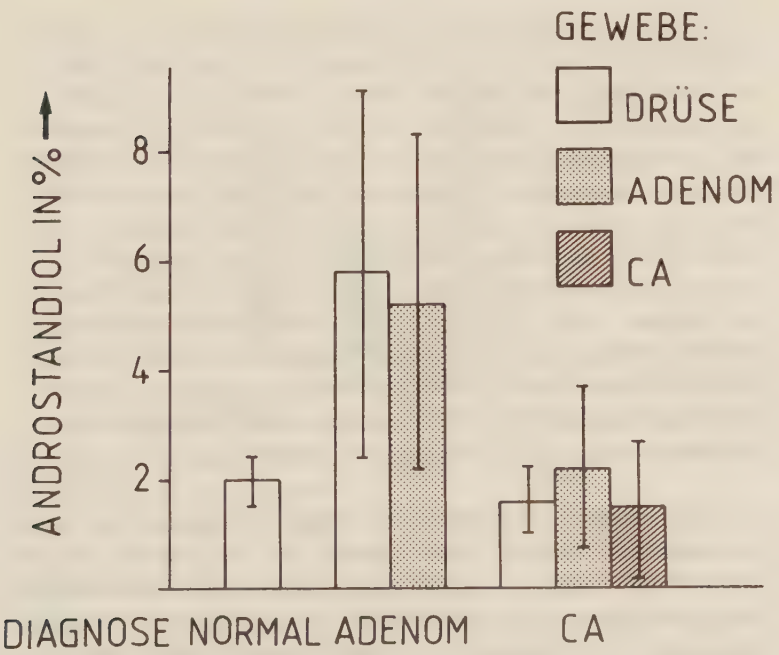

Abbildung 1o: Testosteron → Androstandiol Bioconversion in Prozent

Im Karzinomgewebe war die DHT-Produktion gegenüber den Prostatageweben der Normalpersonen und Adenomträger insgesamt signifikant erniedrigt.

Entsprechend der DHT-Bildung verhielten sich die Unterschiede beim Androstandiol, die Werte waren jedoch durchweg geringer als beim DHT (Abbildung 1o).

II. Testosteron-Metabolismus über den 17-OH-Weg in verschiedenen Karzinomgeweben (Tabelle 4 und 5, Abbildung 11 und 12)

Die 5-alpha-Reduktase-Aktivität schwankte bei den Karzinomträgern beträchtlich (Abbildung 11). Das Karzinomkollektiv wurde deshalb weiter in Vorsteherdrüsen mit zufällig bei der histologischen Untersuchung entdeckten sog. Incidental Karzinomen (In den Abbildungen als Microkarzinome bezeichnet), solche mit klinisch manifesten, aber noch nicht behandelten Karzinomen der Stadien B bis D und solche mit länger bekannten, auf die gegengeschlechtliche Therapie nicht mehr ansprechenden ("hormonresistenten" oder "hormontauben") Karzinomen eingeteilt. Beim Incidental Karzinom stand infolge des begleitenden großen Adenom- bzw. Drüsenanteils keine genügend große Menge Karzinomgewebe, beim hormontauben Karzinom kein Adenomgewebe zur Untersuchung zur Verfügung.

Bei den unbehandelten Karzinomen ließen sich in den gefundenen Ergebnissen, insbesondere bei den Werten für DHT und Androstandiol, deutlich zwei Gruppen unterscheiden, die in der Folge als "enzymreich" und "enzymarm" bezeichnet werden (Abbildung 11). Diese Einteilung geschah unabhängig von den klinischen Stadien der Karzinome. In Tabelle 1 sind die Patienten mit "enzymarmem" Karzinom mit SU., AL. und KE. bezeichnet.

Bei allen Gruppen wurde bei weitem das meiste Testosteron über den 17-OH-Weg metabolisiert. Der Unterschied zum 17-Keto-Weg war jedoch beim Karzinomgewebe des virginellen (=unbehandelten) enzymreichen Karzinomträgers und allen Gewebskompartimenten des virginellen enzymarmen und des hormontauben Karzinomträgers kleiner als bei den übrigen.

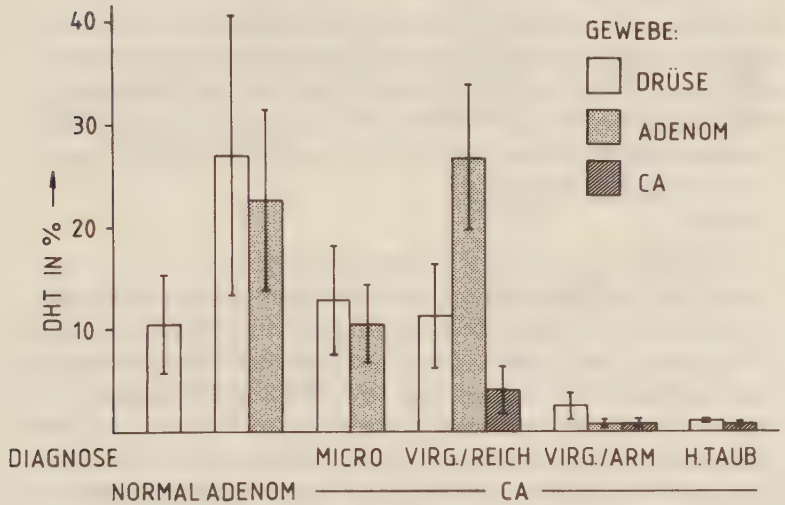

Abbildung 11: Testosteron → Dihydrotestosteron Bioconversion in Prozent
MICRO = Incidental Karzinom

D H T (Abbildung 11)
Innerhalb der verschiedenen Gruppen von Karzinomträgern schwankte die DHT-Produktion beträchtlich. Das Incidental Karzinom zeigte im Drüsenanteil eine konstante Testosteron-DHT-Conversion, die sich weder signifikant von der

des Adenomanteils derselben Prostata, noch von der des Drüsenanteils der enzymreichen, unbehandelten Karzinom-Prostata und von der des Normalkollektivs unterschied. Die Testosteron-DHT-Conversion im Drüsenanteil des Incidental-Karzinomträgers und des Trägers eines virginellen enzymreichen Karzinoms lag signifikant über der im Drüsenanteil des Trägers eines virginellen enzymarmen und eines hormontauben Karzinoms. Die drei virginellen, enzymarmen Karzinome zeigten nahezu keine DHT-Bildung und glichen darin den drei hormonresistenten, progredienten Karzinomen, der Lymphknotenmetastase und dem gesunden Muskelgewebe. Die DHT-Bildung im Adenomanteil der enzymreichen unbehandelten Karzinom-Prostata war signifikant höher als im Drüsenanteil.

A n d r o s t a n d i o l (Abbildung 12)
Analog der DHT-Produktion war die Androstandiol-Bildung in den Gewebskompartimenten des Adenoms am größten. Die Mittelwerte der Androstandiol-Bildung im Drüsengewebe des Incidental Karzinoms und des virginellen, enzymreichen Prostatakarzinoms lagen graphisch höher als beim virginellen, enzymarmen und beim hormontauben Prostatakarzinom, waren aber statistisch nicht unterscheidbar. Die Bioconversion war auch hier im Adenomanteil des Karzinomträgers (unbehandelt, enzymreich) signifikant höher als im Drüsenanteil. Normalkollektiv einerseits und Drüsengewebe der Karzinomträger (Incidental und virginell, enzymreich) andererseits unterschieden sich nicht signifikant. Zu den Drüsengeweben der Karzinomträger (hormontaub und virginell, enzymarm) besteht jedoch ein Unterschied.

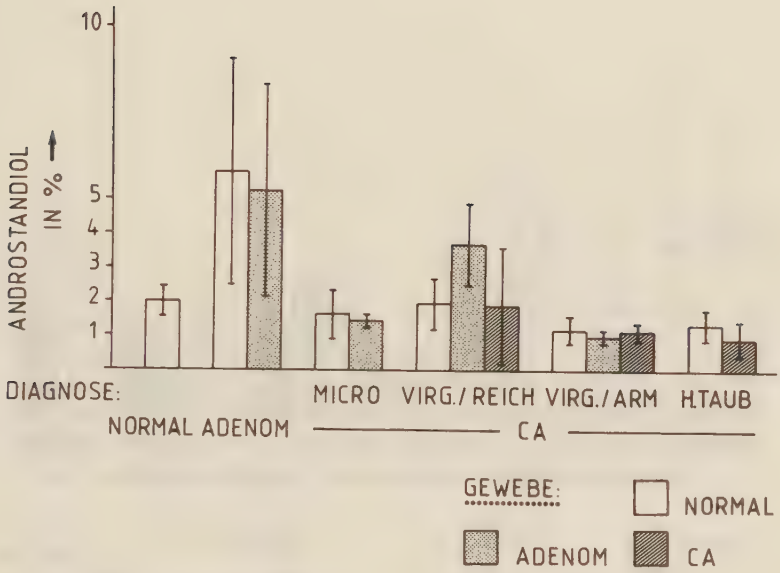

Abbildung 12: Testosteron → Androstandiol
Bioconversion in Prozent
MICRO = Incidental Karzinom

III. Testosteron-Metabolismus über den 17-Keto-Weg
(Abbildung 13, 14 und 15; Tabelle 4)

Dieser Abbauweg hatte nur geringen Anteil am Abbau des Testosteron.

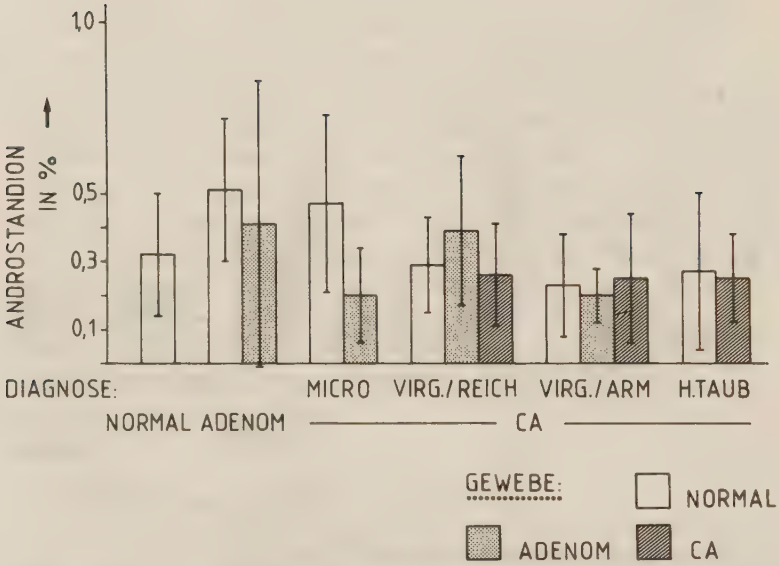

Abbildung 13: Testosteron → Androstandion
Bioconversion in Prozent
MICRO = Incidental Karzinom

A n d r o s t a n d i o n (Abbildung 13)
Die Androstandion-Bildung war im Drüsen- und Adenomanteil des Adenomträgers höher als im Drüsengewebe des gesunden jungen Mannes. Auch war die Androstandion-Produktion im Drüsenteil des Incidental-Karzinomträgers höher als in den anderen Gewebskompartimenten von Karzinomträgern oder in der gesunden Drüse. Diese Differenzen sind jedoch nicht signifikant.

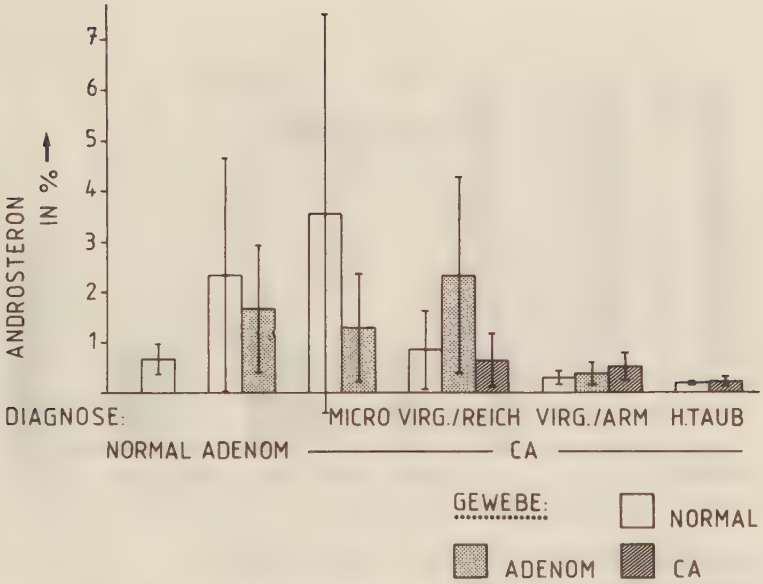

Abbildung 14: Testosteron → Androsteron
Bioconversion in Prozent
MICRO = Incidental Karzinom

A n d r o s t e r o n (Abbildung 14)
Analog zur Androstandion-Bildung ist die Bildung von Androsteron in Drüsen- und Adenomanteil des Adenomträgers höher als in der gesunden Drüse und in Karzinomgewebe. Auch im Drüsenanteil der Incidental-Karzinomprostata wird eine höhere Androsteron-Produktion als in den anderen Kompartimenten von Karzinomträgern oder der gesunden Drüse gefunden. Diese Differenzen sind ebenfalls nicht signifikant.

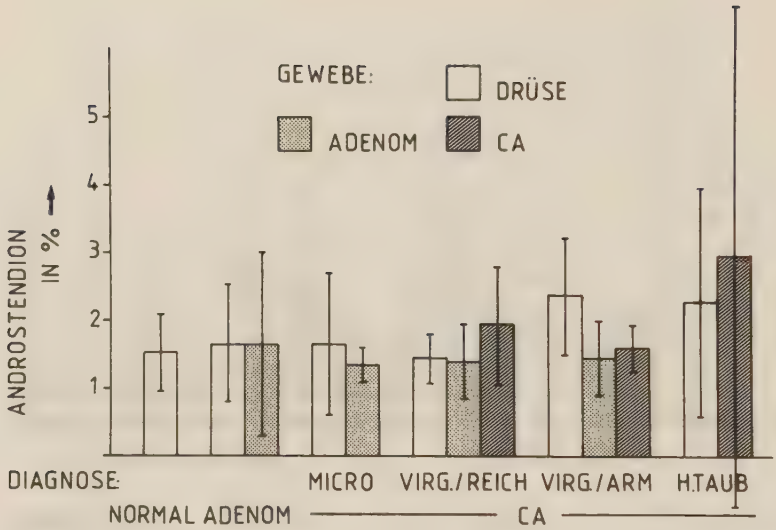

Abbildung 15: Testosteron → Androstendion Bioconversion in Prozent
MICRO = Incidental Karzinom

A n d r o s t e n d i o n (Abbildung 15)
Die Testosteron-Androstendion-Bioconversion zeigte in allen Gewebearten bei allen Patientenkategorien keine signifikanten Unterschiede.

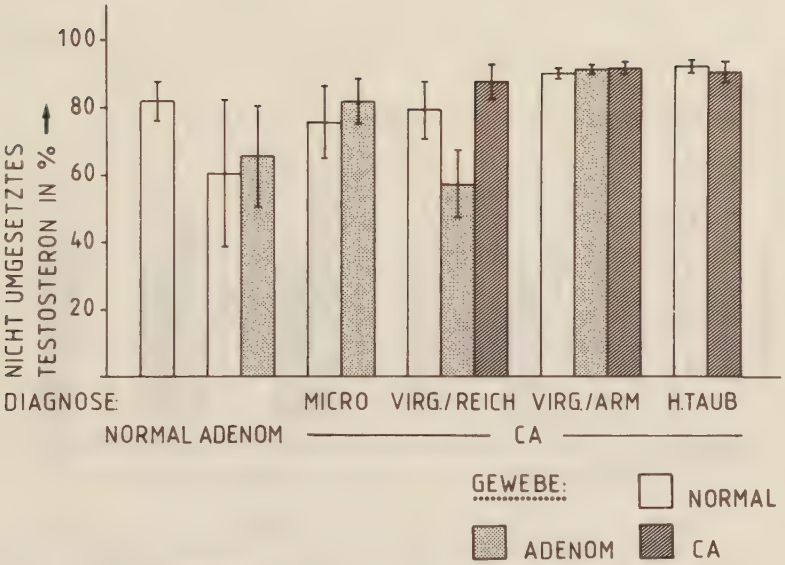

Abbildung 16: Nicht umgesetztes Testosteron in Prozent
MICRO = Incidental Karzinom

IV. Übrige aufgefundene Substanzen
(Abbildung 16 und 17; Tabelle 4)

T e s t o s t e r o n (Abbildung 16)
Die Menge des nicht metabolisierten Testosterons war naturgemäß umso geringer, je mehr andere Steroide gefunden wurden . Sie verhielt sich umgekehrt proportional zur DHT-Bildung.

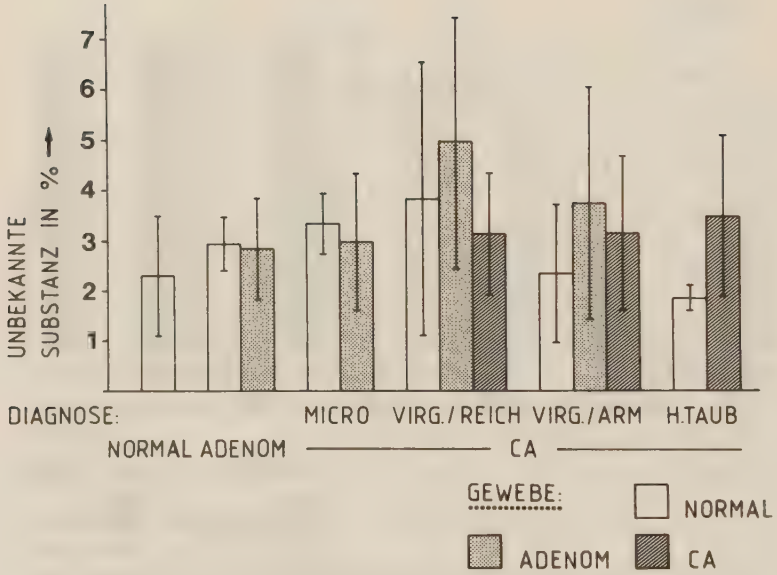

Abbildung 17: Testosteron → Unbekannte Substanz
Bioconversion in Prozent
MICRO = Incidental Karzinom

U n b e k a n n t e S u b s t a n z (Abbildung 17)
Bei der Bildung der polaren unbekannten Substanz konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

E. DISKUSSION

Die Diskussion gliedert sich in folgende Abschnitte:

I. Die Beurteilung der 5-alpha-Reduktase-Aktivität bei den verschiedenen Patienten.

II. Die Beurteilung der 3-alpha-Hydroxy-Steroiddehydrogenase-Aktivität bei den verschiedenen Patienten.

III. Die Beurteilung der 17-beta-Hydroxy-Steroiddehydrogenase-Aktivität bei den verschiedenen Patienten.

I. Die Beurteilung der 5-alpha-Reduktase-Aktivität bei den verschiedenen Patienten.

Aus den vorliegenden Ergebnissen der Bioconversionsuntersuchungen Rückschlüsse auf die Enzymaktivitäten in den einzelnen Geweben zu ziehen, ist nur mit Einschränkungen möglich.

Um zu einer Aussage über die Aktivität der 5-alpha-Reduktase zu kommen, müßte man korrekterweise alle von diesem Enzym abhängigen Metaboliten, also DHT, Androstandion, Androstandiol und Androsteron (Abbildung 1) addieren. Durch die 5-alpha-Reduktase wird in der Prostata aus Testosteron DHT gebildet. Dieser Metabolit ist mengenmäßig (= Anteil der wiedergefundenen Radioaktivität) in der Regel das Hauptabbauprodukt. Malathi und Gurpide (28) haben darauf hingewiesen, daß die weitere Metabolisierung des DHT fast ausschließlich über Androstandiol läuft. Aus Abbildung 9 und 1o ist ersichtlich,

daß die Bildung von Androstandiol sekundär abhängig ist von der Menge des angebotenen DHT. Diese Abhängigkeit ist gegeben, da das Substrat DHT zumindest während der meisten Zeit der Inkubation nicht in enzymsättigender Konzentration vorliegt. Dasselbe können wir über das hauptsächlich aus Androstandiol (s.o.: 28) gebildete, im Vergleich zu Androstandiol äußerst geringe Androsteron sagen. Androstandion wird zum größeren Teil direkt von der 5-alpha-Reduktase aus Androstendion gebildet, das in unterschiedlichen Konzentrationen (s.u.) aus Testosteron entsteht. Zum weitaus geringeren Teil (s.o.: 28) ist der Vorläufer DHT.

Wie bei anderen Autoren (3, 25, 26, 33, 36) wurde auch in dieser Arbeit nur DHT als Parameter zur Beurteilung der 5-alpha-Reduktase-Aktivität herangezogen, vor allem aufgrund der sekundären Abhängigkeit der DHT-Abbauprodukte und der daraus folgenden Identität der Resultate (Signifikante Unterschiede treten hier wie da in gleicher Weise auf.) bei den einzelnen Vergleichen (Tabelle 5).

Siiteri und Wilson (36) haben keinen Unterschied in der Bildung von DHT zwischen normaler Drüse und BPH gefunden.

Im Gegensatz dazu zeigen die hier vorliegenden Ergebnisse einen signifikanten Unterschied der 5-alpha-Reduktase-Aktivität zwischen Drüsengewebe gesunder Patienten und Drüsen- bzw. Adenomgewebe von BPH-Patienten.

Die o.g. Autoren haben relativ junge Männer als Normalkollektiv herangezogen (im Schnitt 33 Jahre; die in dieser Studie untersuchten sind durchschnittlich 27,3 Jahre alt.). So scheinen doch eher Unterschiede in der Methode

für die unterschiedlichen Ergebnisse verantwortlich zu sein. In einer weiteren Arbeit bestätigt die Gruppe um Wilson (14) die vorher gefundenen Ergebnisse am Hund und auch die Ergebnisse von Jenkins und McCaffery (25) weisen in dieselbe Richtung.

In der erwähnten Untersuchung haben Siiteri und Wilson in BPH-Gewebe vergleichsweise hohe Konzentrationen an DHT festgestellt. Untersuchungen von anderen Autoren kommen zu ähnlichen Ergebnissen (1, 13, 14, 18). Dabei erhebt sich die Frage, ob ein hoher Gehalt an DHT mit einer erhöhten Conversion Testosteron - DHT korrelieren muß. Die genannten Untersuchungen scheinen auf eine verneinende Antwort hinzudeuten. So ist bei gleichbleibender DHT-Bildung eine verminderte Weiterverstoffwechselung vorstellbar. Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Androstandiol-Werte und die errechnete Androstandiol-Bildung (s.u.) schließen diese Möglichkeit (in diesem Versuchsansatz) jedoch weitgehend aus.

In Übereinstimmung mit der vorliegenden Literatur (3, 9, 15, 26, 33) fand sich in BPH-Gewebe stets eine höhere Testosteron-DHT-Conversion als im Drüsengewebe junger Männer. Dagegen fand sich in Drüsen- und Adenomanteil der BPH-Prostata kein signifikanter Unterschied.

Ein signifikanter Unterschied der Enzymaktivität bestand jedoch im Drüsenanteil der Adenomträger und der Karzinomträger. Ebenso war der Unterschied zwischen Drüsen- und Adenomkompartiment des Adenomträgers und Karzinomgewebe des Karzinomträgers signifikant, während zwischen Adenomanteil der Adenomträger und Adenomanteil der Karzinomträger kein signifikanter Unterschied bestand.(Tabelle 5)

In ihrer schon erwähnten Arbeit haben Jenkins und McCaffery gut differenziertes Karzinomgewebe, BPH und Drüsengewebe bezüglich ihrer Bioconversion verglichen. Im Unterschied zum Vorgehen in der vorliegenden Arbeit haben sie die verwendeten Proben vor Aufarbeitung nicht auf den tatsächlichen Gehalt an Drüsen-/ Adenom-/ Karzinomgewebe histologisch überprüft, sondern sind lediglich von der bioptisch gesicherten Diagnose ausgegangen.

Die Autoren fanden heraus, daß ein gut differenziertes Karzinom Testosteron in ähnlicher Menge zu DHT metabolisierte wie normales Drüsengewebe. Für die vorliegende Studie lag eine größere Anzahl gut differenzierter Karzinome vor; eine eindeutige Zuordnung der Testosteron-DHT-Conversion zum Differenzierungsgrad der Tumoren konnte jedoch, auch aufgrund des zu geringen Krankengutes, nicht hergestellt werden.

In dieser Beziehung stimmten die gemachten Beobachtungen mit denen von Bard und Lasnitzki (3) überein. Diese Autoren haben die Bioconversion von Prostatagewebe von einem Dutzend Karzinompatienten untersucht. Sie fanden bei sieben dieser Proben eine DHT-Bildung, die zwar etwas geringer aber noch im Bereich der DHT-Bildung von BPH-Proben war, während die Conversion der anderen fünf Proben signifikant darunter lag. Diese großen Unterschiede korrelierten, wie auch in dieser Untersuchung, nicht mit dem Entdifferenzierungsgrad der Karzinome.

Kliman, Prout u.a. (33) fanden zwar in einer mäßig differenzierten Karzinommetastase eine höhere Testosteron-DHT-Conversion als in schlecht differenzierten Metastasen

(wo praktisch keine Umsetzung stattfand), konnten diesen Einzelbefund jedoch auch nicht eindeutig auf die Primärkarzinome ausdehnen.

In diesem Zusammenhang ist noch auf einen im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten mit einem sekundär hormonresistenten Karzinom hinzuweisen. Aus seiner Prostata wurden sechs Gewebsspäne mit drei verschiedenen histologischen Klassifizierungen untersucht: je zwei hoch-, zwei wenig differenzierte und zwei solide-anaplastische Karzinomgewebe. Von allen sechs Proben wurde praktisch kein Testosteron umgesetzt. Man kann das als Indiz dafür werten, daß die Testosteronumsetzung zumindest bei sekundär hormonresistenten Karzinomen nicht vom Differenzierungsgrad abhängig ist.

Jenkins und McCaffery (25) berichten auch von drei schon einer gegengeschlechtlichen Hormontherapie unterzogenen Karzinomen, die nur noch in äußerst geringem Maße (o,9 bis 2,5%) DHT bildeten.

Auch Bard und Lasnitzki (3) führen ein mit Stilböstrol behandeltes Karzinom an, das bei der Conversionsuntersuchung mit Abstand am wenigstan (1,8%) DHT produzierte.

Di Silverio und Coautoren (37) fanden ebenfalls in Geweben gegengeschlechtlich behandelter Karzinompatienten eine minimale DHT-Produktion, während sie bei unbehandelten Karzinomgeweben unterschiedlich ausfiel.

Kliman, Prout und Mitarbeiter haben in einer weiteren Arbeit (26) ebenfalls auf die höchst unterschiedliche DHT-Bildung bei Prostatakarzinomen hingewiesen.

Die Beobachtungen der vorgenannten Autoren (3, 25, 26, 37) bezüglich der höchst unterschiedlichen Testosteron-DHT-Conversion bei Karzinompatienten stimmen mit den hier vorliegenden Ergebnissen überein.

So wurden Gewebsproben von bereits gegengeschlechtlich behandelten Patienten untersucht, bei denen die Tumoren nach anfänglich gutem palliativem Effekt nicht mehr angesprochen hatten. In Karzinomgewebe dieser "hormontauben" Gruppe konnte fast keine DHT-Bildung (o,7%) mehr nachgewiesen werden; Drüsengewebe aus diesen Prostatae verhielt sich beinahe identisch (1,o%).

Eine weitere Gruppe bildeten die Incidental Karzinome, die erst bei der histopathologischen Untersuchung als solche identifiziert worden waren. Die Bioconversion in ihrem begleitenden Drüsen- und BPH-Gewebe entspricht in etwa dem Adenomkollektiv.

Die übrigen, virginellen d.h. unbehandelten Karzinome ließen sich nach ihrer Enzymaktivität in sog. "enzymreiche" und "enzymarme" einteilen. Dabei bezieht sich diese Charakterisierung zunächst einmal nur auf die 5-alpha-Reduktase.

Incidental Karzinom und virginelles enzymreiches Karzinom lassen sich in ihrer DHT-Bildung im Drüsenanteil nicht signifikant von gesunden Vorsteherdrüsen unterscheiden. Die Gruppe der virginellen enzymreichen Karzinome erreicht in ihrem Adenomkompartiment sogar eine Testosteron-DHT-Conversion, die der einer BPH (Drüsen- und Adenomgewebe) entspricht und signifikant höher liegt als im Drüsenanteil (Tabelle 5). Dagegen zeigen die drei

virginellen enzymarmen Karzinome in allen drei Gewebskompartimenten nahezu keinen Testosteronmetabolismus. Sie gleichen darin den hormontauben Karzinomen.

Die in der vorliegenden Studie gefundenen Ergebnisse stimmen mit den von Kliman, Prout u.a. 1976 veröffentlichten weitgehend überein. Diese Autoren hatten eine etwas andere Methode gewählt: Sie untersuchten Nadelbiopsien, die sie aber in ganz ähnlicher Weise wie wir histopathologisch untersuchten. Sie legten allerdings Wert darauf, den prozentualen Anteil an Stroma und Epithelien festzustellen, um eine Aussage über die Verteilung der 5-alpha-Reduktase-Aktivität treffen zu können. So kamen sie zu dem Schluß, daß in beiden histologischen Bereichen Testosteron umgesetzt wird. Kurze Zeit später wurde dann von Cowan et al. (7) festgestellt, daß im Stroma der BPH bei weitem mehr Testosteron zu DHT umgesetzt wird als in den Epithelien. In der vorliegenden Arbeit mußte auf Untersuchungen in dieser Richtung verzichtet werden, da die Methode der TUR-Span-Klassifikation und -Selektion eine mechanische Trennung nicht zuläßt, darüberhinaus ein späteres erneutes Auftauen der Späne zu unkalkulierbaren Enzymverlusten führen würde.

BPH-Gewebe (entsprechend der hier untersuchten BPH-Gruppe) zeigte bei Prout und Kliman einen deutlich höheren Testosteronumsatz als Karzinomgewebe des unbehandelten Karzinoms. Karzinomgewebe mit begleitendem Adenomgewebe metabolisierten in dieser Studie entsprechend ihrem Adenomanteil auch mehr Testosteron als virginelle, reine Karzinome, während die Bioconversion im sekundär hormontauben Karzinom minimal war. Drüsengewebe von unbehandelten Karzinompatienten zeigte ebenfalls eine hohe Testosteron-Conversion, die signifikant über der von

Drüsengewebe unbehandelter Karzinompatienten lag. Alle diese Ergebnisse entsprechen denen der vorliegenden Arbeit. Dies trifft auch für das Rectus-Muskel- und Metastasengewebe zu.

Die Gewinnung von normalem Drüsengewebe junger Männer ist erfahrungsgemäß schwierig. Prout et al. berichten über eine hohe DHT-Bildung bei der Gewebsprobe eines gesunden Probanden, die noch über der der von ihnen gemessenen Adenome lag. Wir fanden im Mittel im Drüsengewebe junger Männer weniger Enzymaktivität als im Drüsen- bzw. Adenomgewebe der Adenomträger. Allerdings stammt unser Drüsengewebe aus Vorsteherdrüsen junger Männer mit Querschnittsymptomatik, die wegen ihrer neurogenen Blasenentleerungsstörung eine Inkontinenzresektion erhielten. Die Frage, ob bei diesem Kollektiv eine primär veränderte Hormon- bzw. Enzymsituation vorliegt, wurde in dieser Arbeit nicht überprüft.

Zusätzlich untersuchten diese Autoren im Gegensatz zur hier vorliegenden Arbeit Karzinome in Remission. Diese zeigten eine Bioconversion, die, den unbehandelten Karzinomen vergleichbar, signifikant über der hormonresistenten Gruppe lag.

Betrachtet man die Bioconversionsergebnisse der vorliegenden Studie, drängen sich folgende Überlegungen auf:

Die Träger eines Incidental Karzinoms haben im Drüsen- und Adenomanteil ihrer Vorsteherdrüse einen Testosteron-Metabolismus, der mit dem von gesunden Patienten vergleichbar ist. Interessant erscheinen Untersuchungen des Conversionsverhaltens im Karzinomgewebe des Incidental-Karzinomträgers. In der Regel liegt hier ein hoch-

differenziertes G_1-Karzinom vor, das klinisch als "latentes" Karzinom umschrieben wird. Diese Untersuchungen müßten jedoch mit einem Micro-Assay durchgeführt werden, da ja aufgrund des Micro-Prozesses nur kleinste Gewebemengen verfügbar sind. Die exakte histologische Identifizierung des zu untersuchenden Gewebes bereitet hier erfahrungsgemäß die meisten Schwierigkeiten.

Die in dieser Arbeit vorgenommene Einteilung in BPH mit Drüsen- und Adenomanteil / Incidental Karzinom mit Drüsen- und Adenomanteil / virginelles Karzinom mit Drüsen-, Adenom- und Karzinomkompartiment heißt selbstverständlich nicht, daß maligne Entartung sich aus benigner Hyperplasie entwickelt. Bei den meisten Männern über 5o Jahren liegt eine Hyperplasie der periurethralen Prostatadrüsen - ein Prostataadenom - vor, so daß die Koinzidenz von Adenom- und Karzinomgewebe beim Karzinomträger als normal angesehen werden muß, wobei sich das Karzinom im Gegensatz zur benignen Hyperplasie in der peripheren Prostatazone entwickelt. Bei fortgeschrittenem Prostatakarzinom kann die Karzinominfiltration so massiv sein, daß sich bei der histologischen Gewebeklassifikation nur Karzinomgewebe zeigt, die Kompartimente Adenom- und Drüsengewebe zur Bioconversionsstudie nicht mehr verfügbar sind. Dies war bei vier unserer Patienten der Fall.

Bei Analyse der Testosteron-Bioconversion im Karzinomgewebe ließen sich zwei Gruppen erkennen: solche mit relativ hoher Testosteron-Conversion und solche mit fast keiner. Aussagen darüber, ob die enzymarmen eine chronologische Fortentwicklung der enzymreichen darstellen, ob also jedes enzymarme Prostatakarzinomgewebe einmal enzymreich gewesen ist, oder ob von Anfang an, also dem Zeit-

punkt der malignen Entartung beide Formen existieren, sind aufgrund dieser Untersuchung letztgültig nicht möglich.

Die Tatsache, daß gegengeschlechtlich behandelte, sekundär hormontaube Karzinome keine 5-alpha-Reduktase-Aktivität aufweisen, spricht für die Möglichkeit der sekundären Veränderung des Enzymprofiles eines Karzinoms im Sinne einer Selektion.

6o bis 8o% der Prostatakarzinome sprechen auf eine gegengeschlechtliche Therapie (Östrogene, Antiandrogene und Kastration einzeln oder kombiniert) anfangs gut an. Die von Kliman und Prout (33) gefundenen Conversionsergebnisse bei Karzinomen in Remission und die von ihnen gefundenen und durch die vorliegende Arbeit bestätigten Ergebnisse bei hormonresistent gewordenen Karzinomen stützen die Hypothese, daß bei 5-alpha-Reduktase-reichen virginellen Karzinomen mit einem Behandlungserfolg durch Östrogene oder Antihormone zu rechnen ist, während 5-alpha-Reduktase-arme Karzinome einer Strahlen- oder Chemotherapie zugeführt werden sollten.

Ergänzt werden könnte diese prätherapeutische Selektion durch die mikroskopischen Beobachtungen von Sinha et al. (38). Sie haben beim Prostatakarzinom zwei verschiedene Arten von Basalzellen, nämlich helle und dunkle, beobachtet. Hormontaube Karzinome zeigten viel mehr dunkle Basalzellen. Die Autoren postulierten, daß die dunklen und einige der hellen Zellen nicht auf die gegengeschlechtliche Therapie ansprechen und schlossen daraus, daß hormonsensible Zellen des Prostatakarzinoms durch die Therapie zerstört werden, während die hormontauben Zellen weiterwachsen und metastasieren.

Ferner ist in diesem Zusammenhang noch auf die Rezeptoruntersuchungen hinzuweisen, wobei eine Korrelation zwischen Androgen-Rezeptorgehalt im Kern und Hormonsensibilität des Karzinoms diskutiert wird (8, 12, 29, 39, 4o, 41).

Der Zweck solcher Untersuchungen liegt auf der Hand: Könnte man mit ihrer Hilfe mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Aussage treffen im Hinblick auf die Ansprechbarkeit des einzelnen Karzinoms auf die gegengeschlechtliche Therapie, könnte man vielen Patienten schwere physische Nebenwirkungen (Gynäkomastie, Impotenz, Erhöhung des Risikos tromboembolischer und kardialer Komplikationen etc.) und daraus resultierende psychische Belastungen ersparen, zumal ein lebensverlängernder Effekt der Hormontherapie zweifelhaft ist (4, 31).

II. Die Beurteilung der 3-alpha-Hydroxy-Steroiddehydrogenase-Aktivität bei den verschiedenen Patienten.

Die Bildung von Androstandiol erlaubt mit Einschränkungen, auf die Aktivität der 3-alpha-Hydroxy-Steroiddehydrogenase Rückschlüsse zu ziehen.

Einige Autoren haben schon auf die Bedeutung des durch Bioconversion in verschiedenen Prostatageweben gebildeten Androstandiols verwiesen (2, 3, 25). Während Shida und Coautoren (35) keinen Unterschied zwischen gesunder Drüse und BPH nachweisen konnten (die Androstandiol-Produktion in BPH-Gewebe war höher, aber nicht signifikant), stellten Jacobi und Mitarbeiter (23, 24) eine signifikante Erhöhung der Androstandiol-Bildung in BPH fest. Jacobi und Coautoren (23) berichteten ferner von signifikanten Unterschieden zwischen gut- und schlecht differenziertem Karzinomgewebe.

Die in dieser Studie gefundenen absoluten Androstandiol-Werte entsprechen den DHT-Werten, sind aber um einiges niedriger (Abbildung 12). Das ist auch leicht zu erklären, da die Androstandiol-Produktion erst in Gang kommen kann, wenn sich aus Testosteron im Laufe der Inkubation das Substrat DHT gebildet hat. Diese Substratbereitstellung erfolgt bei den verschiedenen Geweben in höchst unterschiedlicher Menge und Geschwindigkeit (s.o.), so daß ein Rückschluß auf die Aktivität der 3-alpha-Hydroxy-Steroiddehydrogenase aus den Androstandiol-Werten nicht möglich ist.

Immerhin scheint es berechtigt, für gesunde Männer und BPH-Patienten die Aussage zu treffen, daß DHT zu Androstandiol umgesetzt wird, somit Enzymaktivität vorhanden

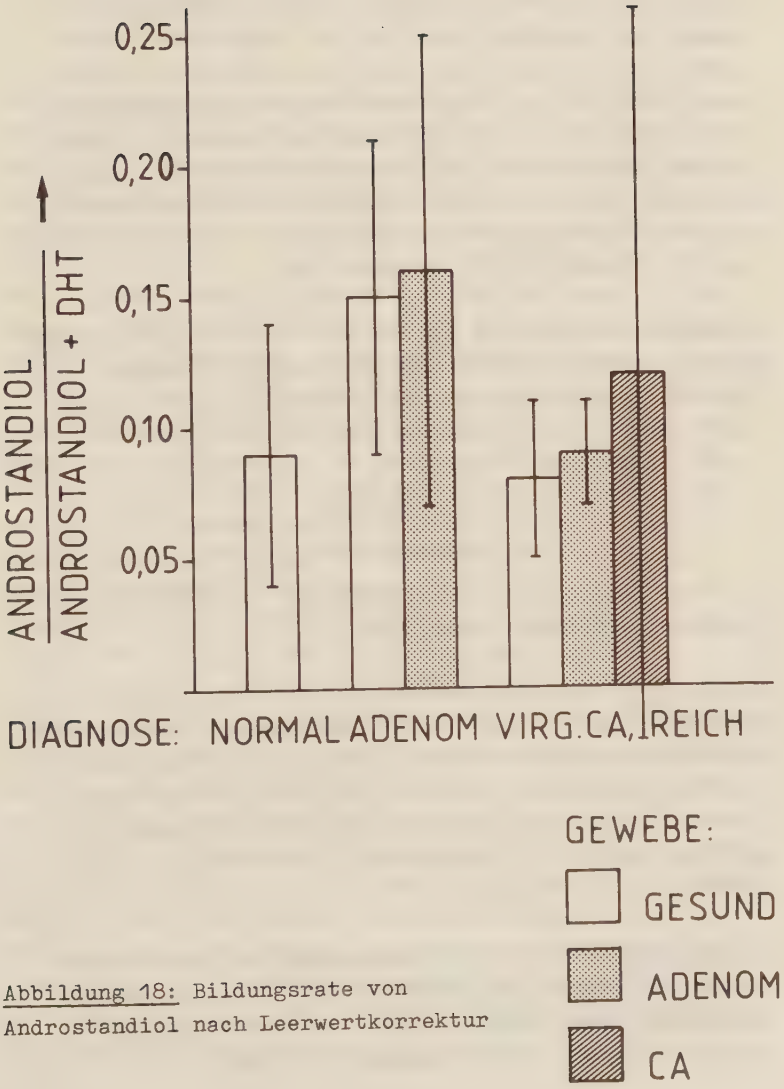

Abbildung 18: Bildungsrate von Androstandiol nach Leerwertkorrektur

ist. Die gleiche Aussage trifft für das 5-alpha-Reduktase-reiche Karzinomgewebe zu. Für virginelle 5-alpha-Reduktase-arme und hormontaube Karzinome kann man das nicht sagen, da die in diesen Geweben gemessenen Androstandiol-Werte mit etwa 1% denen der Leerwerte (Inkubationen ohne Gewebe) entsprechen (Tabelle 4). Androstandiol konnte also unter diesen Bedingungen mangels Substrat nicht gebildet werden; man kann nicht beurteilen, ob Enzymaktivität vorhanden ist.

Um aus den ermittelten Werten doch noch eine (begrenzte) Aussage über das Ausmaß der Aktivität der 3-alpha-Hydroxy-Steroiddehydrogenase treffen zu können, wurde für Normalpersonen, Adenomträger und virginelle enzymreiche Karzinome der Quotient

$$\frac{\text{Androstandiol}}{\text{Androstandiol + DHT}}$$

die sog. "Androstandiol-Bildungsrate" nach Leerwertkorrektur errechnet (Abbildung 18).

Sie zeigt keinen Unterschied zwischen Drüsengewebe aus normaler Prostata und Drüsen-/Adenomgewebe des 5-alpha-Reduktase-reichen Prostatakarzinoms. Die Kompartimente der BPH zeigen eine (nicht signifikant) höhere Androstandiol-Bildungsrate. Die so gefundenen Ergebnisse scheinen bezüglich normalem und BPH-Gewebe die o.e. Autoren zu bestätigen.

Die Bildungsraten der Karzinomgewebe variierten außerordentlich stark. Ein Zusammenhang mit pathohistologischem Differenzierungsgrad oder 5-alpha-Reduktase-Aktivität konnte nicht hergestellt werden.

III. Die Beurteilung der 17-beta-Hydroxy-Steroiddehydrogenase-Aktivität bei den verschiedenen Patienten.

Um Aussagen über die 17-beta-Hydroxy-Steroiddehydrogenase, die die 17-OH-Steroide in die 17-Keto-Steroide überführt, machen zu können, mußte darauf verzichtet werden, alle drei 17-Keto-Metabolite Androstendion, Androstandion und Androsteron zu addieren (Abbildung 13, 14, 15; Tabelle 4), da die exakte Bestimmung des Androsterons die erwähnten (siehe S.24) Schwierigkeiten bereitete. Statt dessen beschränkten wir uns auf die Beurteilung des gebildeten Androstendions (Abbildung 15).

Testosteron und Androsteron sind ineinander umwandelbar, wobei das Gleichgewicht stark zum Testosteron hin verschoben ist (6). In Übereinstimmung mit Collins et al. wurden in BPH-Gewebe äußerst geringe Mengen an gebildetem Androstendion gefunden. In unbehandelten Karzinomen schien in Drüsen- und Karzinomkompartiment die Androstendion-Produktion leicht erhöht, signifikante Unterschiede waren nicht feststellbar (Abbildung 19).

Hammond berichtet in seiner Untersuchung (18), die sich mit den Konzentrationen verschiedener Androgene in BPH- und Karzinom-Vorsteherdrüsen (unbehandelt) befaßt, über eine erhöhte Androstendion-Konzentration in virginellen Karzinomen. Diese Beobachtung stimmt mit der in der vorliegenden Studie gemachten, daß nämlich die Testosteron-Androstendion-Conversion nicht signifikant erhöht ist, überein, wenn man bedenkt, daß durch die festgestellte (Abbildung 9, 11) stark verminderte 5-alpha-Reduktase-Aktivität nur wenig Androstendion weiter zu Androstandion metabolisiert wird.

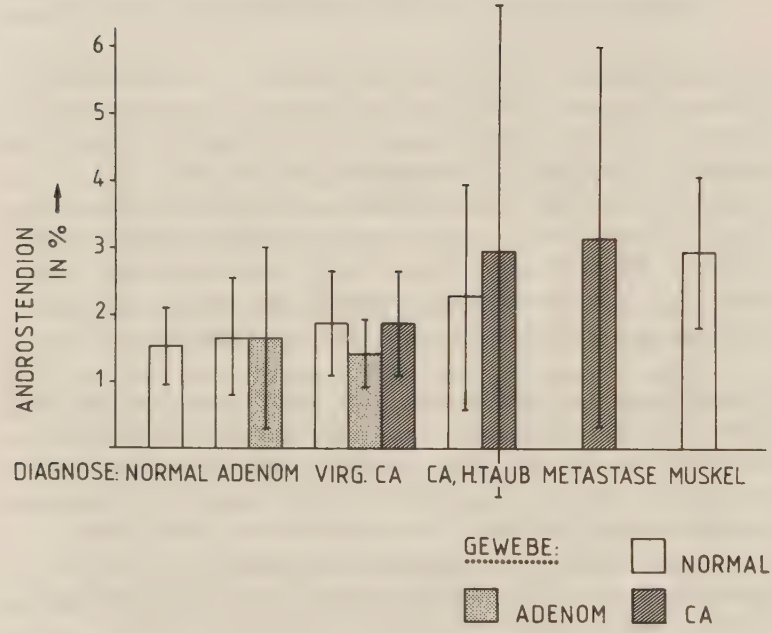

Abbildung 19: Testosteron → Androstendion Bioconversion in Prozent

Eine Abhängigkeit der Bioconversion in unbehandelten Karzinomen vom Alter der Patienten, wie sie von Bard, Lasnitzki et al. (3) beobachtet wurde, konnte nicht nachgewiesen werden.

Am interessantesten ist die Androstendion-Bildung in hormonresistenten Karzinomen. Sowohl im Drüsen- als auch im Karzinomgewebe fanden sich hier sehr unterschiedliche Werte. Diese starke Streuung war bei Gewebsproben aller drei Patienten feststellbar. Androstendion war hier bei

allen Inkubationen (außer einer) das am maisten gebildete Steroid. In zwei der untersuchten Proben (desselben Patienten) fand ich die höchsten überhaupt von mir gemessenen Werte an Androstendion vor. Auch in Metastasen- und Muskelgewebe fanden sich durchschnittlich hohe Werte, die deutlich über dem Leerwert lagen. Die bei der Androstendion-Bildung gefundenen Ergebnisse stimmen weitgehend mit denen von Jenkins und McCaffery (25) überein.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Aktivität der 17-beta-Hydroxy-Steroiddehydrogenase in gesunder Prostata, BPH und Karzinomen keine signifikanten Unterschiede aufweist.

In Ergänzung dazu stellten Morfin und Mitarbeiter (31) fest, daß auch zwischen unbehandelten Karzinomen der verschiedenen Differenzierungsgrade keine signifikanten Unterschiede bestünden.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Die in vitro Testosteron-Bioconversion im Prostatadrüsengewebe junger Männer, in Drüsen- und Adenomgewebe von Patienten mit benigner Prostatahyperplasie (BPH) und in Drüsen-, Adenom- und Karzinomgewebe von Prostatakarzinompatienten wurde untersucht. Die bereits veröffentlichten (1o, 11) Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Das Drüsengewebe des Adenomträgers zeigt eine höhere 5-alpha-Reduktase-Aktivität als das junger Männer bzw. Karzinomträger.
- Die DHT-Bildung im Adenomgewebe des Adenom- und Karzinomträgers ist signifikant nicht unterscheidbar.
- Unbehandelte Karzinome des Stadiums B bis D lassen sich, unabhängig vom Grad der Entdifferenzierung, in eine 5-alpha-Reduktase-reiche und eine 5-alpha-Reduktase-arme Gruppe einteilen.
- Im Adenomanteil des enzymreichen Karzinoms ist die Testosteron-DHT-Conversion signifikant höher als im Drüsenanteil.
- In hormontauben Prostatakarzinomen findet sich keine Testosteron-DHT-Conversion.
- Die Testosteron-Androstendion-Conversion zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunder Prostata, BPH und Karzinom. Sie korreliert nicht mit der 5-alpha-Reduktase-Aktivität, der Tumordifferenzierung oder dem Alter der Patienten.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1 ALBERT, J., J. GELLER, S. GELLER and D. LOPEZ: Prostate concentrations of endogenous androgens by radioimmunassay
J. Steroid Biochem. 7, 301-307 (1976)

2 ALTWEIN, J. E., F. ORESTANO and R. HOHENFELLNER: Testosterone turnover in cancer of the prostate
Invest. Urology 12/2, 157-161 (1976)

3 BARD, D. R. and I. LASNITZKI: The influence of oestradiol on the metabolism of androgens by human prostatic tissue
J. Endocr. 74, 1-9 (1977)

4 BRENDLER, H.: Therapy with orchiectomy or estrogens or both
JAMA 210, 1074-1075 (1969)

5 BRUCHOVSKY, N. and J. D. WILSON: The intranuclear binding of testosterone and 5α-androstan-17ß-ol-3-one by rat prostate
J. Biol. Chem. 243, 5953-5960 (1968)

6 COLLINS, W. P., E. N. KOULLAPIS, C. E. BRIDGES and I. F. SOMMERVILLE: Studies on steroid metabolism in human prostatic tissue
J. Steroid Biochem. 1, 195-207 (1970)

7 COWAN, R. A., S. K. COWAN, J. K. GRANT and H. J. ELDER: Biochemical investigations of separated epithelium and stroma from benign hyperplastic prostatic tissue
J. Endocr. 74, 111-12o (1977)

8 EKMAN, P., M. SNOCHOWSKI, A. ZETTERBERG, B. HÖGBERG and J.-A. GUSTAFSSON: Steroid receptor content in human prostatic carcinoma and response to endocrine therapy
Cancer 44, 1173-118o (1974)

9 FARNSWORTH, W. E. and J. R. BROWN: Metabolism of testosterone by the human prostate
JAMA 183, 436-439 (1963)

1o FLÜCHTER, S. H., W. GRUN, K.-H. BICHLER, K. RAGER, P. SCHMITZ-MOORMANN, R. HARZMANN and D. GUPTA: Testosteronbioconversion in normalem und pathologisch verändertem Prostatagewebe
Verhandlungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Urologie 32.Tagung, 471-474 (198o)

11 FLÜCHTER, S. H., W. GRUN, R. HARZMANN, P. SCHMITZ-MOORMANN, K.-H. BICHLER and D. GUPTA: Altered testosterone metabolism in healthy and diseased prostates
In press

12 FLÜCHTER, S. H., H. MOELLER, G. OETTLING, U. RUMSCHIK, R. STINGEL, P. SCHMITZ-MOORMANN, R. HARZMANN, D. GUPTA and K.-H. BICHLER: Gleichzeitige Bestimmung von Androgen-, Östrogen- und Gestagen-Rezeptoren in entdifferenziertem Prostatacarcinomgewebe
6. Symposium für experimentelle Urologie, Bonn, 15.-17.4.82

13 GELLER, J., J. ALBERT, D. LOPEZ, S. GELLER and G. NIWAYAMA: Comparison of androgen metabolites in benign prostatic hypertrophy (BPH) and normal prostate
J. Clin. Endocr. 43, 686-688 (1976)

14 GLOYNA, E., P. K. SIITERI and J. D. WILSON: Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. II. The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic canine prostate and the effect of dihydrotestosterone on prostate growth in the dog
J. Clin. Invest. 49, 1746-1753 (197o)

15 GLOYNA, R. E. and J. D. WILSON: A comparative study of the conversion of testosterone to 17ß-hydroxy-5α-androstan-3-one (dihydrotestosterone) by prostate and epididymis
J. Clin. Endocr. 29, 97o-977 (1969)

16 GRUMBACH, S.: Vergleich der in Vitro Bioconversion von Pregnenolon zwischen Ratten- und menschlichem Hodengewebe während der sexuellen Reifung
Diss. Med., Tübingen: 1978

17 GUPTA, D.: Prostate cancer: Hormone profiles
Prostate Cancer (Eds.: R. Hohenfellner and G. Jacobi)
Baltimore, London: Williams and Wilkins 1982

18 HAMMOND, G. L.: Endogenous steroid levels in the human prostate from birth to old age: a comparison of normal and diseased tissues
J. Endocr. 78, 7-19 (1978)

19 HANSSON, V., E. M. RITZÉN, F. S. FRENCH, S. N. NAYFEH: Androgen transport and receptor mechanisms in testis and epididymis
Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology, Volume V: Male reproductive system, Chapter 7, 173-2o1, Washington D.C.: American Physiological Society 1975

2o HUGGINS, C.: The etiology of benign prostatic hypertrophy
Bull. N. Y. Acad. Med. 23, 696-7o4 (1947)

21 ISHIMARU, T., L. PAGES and R. HORTON: Altered metabolism of androgens in elderly men with benign prostatic hyperplasia
J. Clin. Endocr. Metab. 45, 695-7o1 (1977)

22 JACOBI, G. H.: Pathogenetische Untersuchungen zur Prostatahyperplasie an normalen und adenomatösen Drüsen des Menschen und des Hundes: 3-alpha-Reduktion von Dihydrotestosteron
Endokrinologie 7o, 158-168 (1977)

23 JACOBI, G. H. and J. E. ALTWEIN: Androgenstoffwechsel im Prostatacarcinom: 3α-Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Aktivität in Abhängigkeit vom Tumordifferenzierungsgrad
Urol. Int. 35, 194-205 (1980)

24 JACOBI, G. H. and J. D. WILSON: Formation of 5α-androstane-3α,17ß-diol by normal and hypertrophic human prostate
J. Clin. Endocr. Metab. 44, 107-115 (1977)

25 JENKINS, J. S. and V. M. MCCAFFERY: Effect of oestradiol-17ß and progesterone on the metabolism of testosterone by human prostatic tissue
J. Endocr. 63, 517-526 (1974)

26 KLIMAN, B., G. R. PROUT, JR., R. A. MACLAUGHLIN, J. J. DALY and P. P. GRIFFIN: Altered androgen metabolism in metastatic prostate cancer
J. Urol. 117, 623-626 (1978)

27 MAINWARING, W. I. P. and E. J. G. MILROY: Characterisation of the specific androgen receptors in the human prostate gland
J. Endocr. 57, 371-384 (1973)

28 MALATHI, K. and E. GURPIDE: Metabolism of 5α-dihydrotestosterone in human benign hyperplastic prostate
J. Steroid Biochem. 8, 141-145 (1977)

29 MOBBS, B. G., I. E. JOHNSON, J. G. CONOLLY and A. F. CLARK: Androgen receptor assay in human benign and malignant prostatic tumor cytosol using protamine sulphate precipitation
J. Steroid Biochem. 9, 289-301 (1978)

30 MOORE, R. A.: The evolution and involution of the prostate gland
Am. J. Path. 12, 599-624 (1935)

31 MORFIN, R. F., I. LEAV, J.-F. CHARLES, L. F. CAVAZOS, P. OFNER and H. H. FLOCH: Correlative study of the morphology and C_{19}-steroid metabolism of benign and cancerous human prostatic tissues
Cancer 39, 1517-1534 (1977)

32 PEARLMAN, W. H. and M. R. J. PEARLMAN: The metabolism in vivo of Δ4-androstene-3,17-dione-7-H^3; its localisation in the ventral prostate and other tissues of the rat
J. Biol. Chem. 236, 1321-1327 (1961)

33 PROUT, G. R. JR., B. KLIMAN, J. J. DALY, R. A. MACLAUGHLIN and P. P. GRIFFIN: In vitro uptake of ^3H testosterone and its conversion to dihydrotestosterone by prostatic carcinoma and other tissues
J. Urol. 116, 603-610 (1976)

34 SACHS, L.: Angewandte Statistik, 4. Aufl. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972

35 SHIDA, K., J. SHIMAZAKI, Y. ITO, H. YAMANAKA and H. NAGAI-YUASA: 3α-reduction of dihydrotestosterone in human normal and hypertrophic prostatic tissues
Invest. Urol. 13, 241-245 (1975)

36 SIITERI, P. K. and J. D. WILSON: Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. I. The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic prostate of man
J. Clin. Invest. 49, 1737-1745 (197o)

37 DI SILVERIO, F., V. GAGLIARDI, G. SORCINI and F. SCIARRA: Biosynthesis and metabolism of androgenic hormones in cancer of the prostate
Invest. Urol. 13, 286- 288 (1976)

38 SINHA, A. A., C. E. BLACKARD and U. S. SEAL: A critical analysis of tumor morphology and hormone treatments in the untreated and estrogene-treated responsive and refractory prostatic carcinoma
Cancer 4o, 2836-285o (1977)

39 DE VOOGT, H. J. and P. DINGJANG: Steroid receptors in human prostatic cancer
Urol. Res. 6, 151-156 (1978)

4o WAGNER, R. K.: Extracellular and intracellular steroid binding proteins
Acta Endocrinol. Suppl. 218, 147-148 (1978)

41 WALSH, P. C., L. L. HICKS, R. WIK and J. TRACHTENBERG: The use of androgen receptors to predict the duration of hormonal response in prostatic cancer
American Urological Association 74th Annual Meeting, New York, 73, 311-314 (1979)

42 WILSON, J. D.: Metabolism of testicular androgens
Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology, Volume V: Male reproductive system, Chapter 25, 491-5o8, Washington D.C.: American Physiological Society 1975

43 WILSON, J. D. and D. N. FREDERIKSEN: Partial charakterisation of the nuclear reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: Δ^4-3-ketosteroid 5α-oxidoreductase of rat prostate
J. Biol. Chem. 246, 2584-2593 (1971)

44 WILSON, J. D. and R. E. GLOYNA: The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction
Recent Progress in Hormone Res. 26, 3o9-336 (197o)

LEBENSLAUF

Am 2. Januar 1955 wurde ich, Wolfgang Matthias Peter Grun, als Sohn des Hubert Grun und dessen Ehefrau Edeltraut, geborene Scheffler, in Neu-Ulm geboren. Dort besuchte ich von 1961 an die Volksschule und wechselte 1965 ans Gymnasium Neu-Ulm über, an dem ich am 22. Juni 1974 die Reifeprüfung bestand.

Vom 1. Juli 1974 bis zum 31. Oktober 1975 leistete ich Zivildienst beim Roten Kreuz in Neu-Ulm.

Vom Herbst 1975 an studierte ich Biologie an der Universität Hohenheim. Ein Jahr später, 1976, wechselte ich zum Studium der Medizin an die Universität Gießen, wo ich am 22. März 1978 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Anschließend setzte ich das Medizinstudium in Tübingen fort und beendete es hier am 26.4.1983 mit dem Staatsexamen.